



Revue Francophone des Laboratoires



**Volume 2016, Issue 486,
Pages 3-90
November 2016**

 LEMONDEDESPHARMACIENS

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](https://www.facebook.com/LEMONDEDESPHARMACIENS)

 [#LemondedesPharm](https://twitter.com/LemondedesPharm)

Elsevier Masson SAS
Société par actions simplifiées
à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031
62, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux



Tél./Fax : 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :

Daniel Rodriguez

DIRECTRICE DES REVUES PROFESSIONNELLES,

RÉDACTRICE EN CHEF :

Yasmina Ouharzoune

y.ouharzoune@elsevier.com

CONSULTANT SCIENTIFIQUE DE LA RÉDACTION :

Claude Naudin

clnaudin@numericable.fr

COLLABORATEURS DE LA RÉDACTION :

Revue de presse :

Joël Gozlan, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès,

Vincent Maréchal, Michel Segondy

Actualités — Santé publique — Veille juridique :

Jean-Marie Manus

FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59

MARKETING – RESPONSABLE DE MARCHÉ :

Sonia Tadjdet (58 60)

s.tadjdet@elsevier.com

PUBLICITÉ – RESPONSABLE DE PUBLICITÉ :

Nicolas Zarjevski (51 38)

Mobile : 06 14 68 51 26

n.zarjevski@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :

Tél. : 01 71 16 55 99 – Fax : 01 71 16 55 77

<http://www.em-consulte.com/infos>

PAO : humancom, 48 rue de Dantzig, 75015 Paris.

IMPRESSION :

Lescure Théol, 27 Douains.

Copyright© 2016 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés. Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation : Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F – 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenues dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

PASIEKA/SPL/PHANIE

Dépôt légal : à parution

Couverture

© SCIENCE PICTURE COMPANY / BSIP

Index des annonceurs

Elitech

17

Elsevier Masson

2-4 - 24 - 34 - 44 -

60 - 70 et 3^e de couv

Otho clinical diagnostics

4^e de couv

Ricai

7

édito

Lyme : on reprend tout à zéro

Le 20 septembre, l'Académie de médecine organise un *Spécial maladie de Lyme*. Une semaine après le ministère présente son Plan de lutte contre la maladie et son agent la tique *Ixodes* : il était temps, la grogne monte chez les professionnels de santé qui diagnostiquent, suivent des patients et combattent la maladie... dont les autorités, alertées depuis longtemps, reconnaissent enfin, ses formes chroniques avec des troubles persistants.

Le plan ministériel calmera-t-il les revendications des professionnels, dont certains ont publié cet été dans un hebdomadaire un manifeste blâmant l'immobilisme des autorités et formulant des propositions retrouvées en partie dans ce plan.

Lyme n'est pas une maladie émergente. Avant qu'on connaisse le pathogène et son vecteur, dès le XIX^e siècle on l'appelait *érythème chronique migrant*, le premier signe étant un érythème cutané ovalaire extensif. Il fallut une épidémie d'ECM en 1975 autour de la ville de Lyme (Connecticut) pour qu'un bactériologiste, Willy Burgdorfer, en identifie l'agent, *Borrelia*, qu'il nomma *Borrelia burgdorferi*.

Le plan du ministère veut informer (mieux ?) les professionnels¹, et la population partout, on l'espère... pas seulement dans l'Est de la France (on y localisait Lyme il y a un quart de siècle). En clouant notamment des panneaux dans les forêts. Et dans les parcs et bois urbains ? Et dans les squares [la Ville de Paris y a collé des panneaux au printemps, vite disparus] ? Et dans les champs ? Méfiez-vous des branches basses et des herbes hautes, *Ixodes* y est.

On va améliorer le diagnostic, les tests actuels seraient peu sensibles et difficiles à interpréter... La recherche aussi : il est temps qu'on ait le même niveau de connaissances que les Allemands et les Américains ! Pour qui Lyme est un fléau.

Pourquoi ne pas créer un Comité médico-biologique des tiques ?

RFL

[1] Prévention de la borréliose de Lyme, sur inpes.santepubliquefrance.fr

Conseil scientifique

PRÉSIDENT : Paul LAFARGUE (Paris).

BUREAU : Bruno BAUDIN (Paris), Dominique CHABASSE (Angers), Alain CHEVAILLER (Angers), Éric GARNOTEL (Marseille), Michèle IMBERT (Créteil), Marie-Laure JOLY-GUILLOU (Angers), Marc MAYNADIÉ (Dijon), Michel SEGONDY (Montpellier).

COMITÉ :

MEMBRES FRANÇAIS : Frédéric BARBUT (Paris), Patrice BOURÉE (Le Kremlin-Bicêtre), Claude GUIGUEN (Rennes), Paul HOFMAN (Nice), François JEHL (Strasbourg), Saïd KAMEL (Amiens), Marie-Nathalie KOLOPP-SARDA (Lyon), Jean-Jacques LATAILLADE (Clamart), Jean-Philippe LAVIGNE (Nîmes), Jérôme LE GOFF (Paris), Michèle MALET (Caen), Vincent MARÉCHAL (Paris), Denis MASSIGNON (Lyon), Thierry MOLINA (Paris), Valérie UGO (Angers).

MEMBRES ÉTRANGERS : Smail BELAZZOUG (Algérie), Ahcène DEMBRI (Algérie), Hicham OUAZZANI (Maroc), Lassaad SARRAI (Tunisie), Abderrahim TAZI (Maroc).

MEMBRES HONORAIRES : Marie-Hélène BESSIÈRES (Toulouse), René CHERMETTE (Maisons-Alfort), Jean-Louis KOECK (Bordeaux), Anne-Marie MANEL (Champagne-au-Mont-d'Or), Jean-Claude NICOLAS (Chatou/Princeton, USA), Martine TIROUCHE †, Michel VAUBOURDOLLE (Paris).

BRÈVES

Enfin un traitement de la maladie de Charcot?

Des données sur le PXT3003, développé par la biopharma Pharnext (Paris), spécialisée dans les maladies neurodégénératives, ont été présentées au Congrès International de la maladie de Charcot-Marie-Tooth et neuropathies associées à Venise (8-10 septembre). Le *pléomédicament* PXT3003 est proposé dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1A (CMT1A), pour laquelle 4 études cliniques ont été présentées. PXT3003 est en phase 3 dans cette forme de la maladie de Charcot et bénéficie du statut de médicament orphelin en Europe et aux USA. Pharnext propose un nouveau modèle de médicaments : la *pléothérapie*, qui identifie et développe des combinaisons synergiques de médicaments déjà approuvés mais pour d'autres maladies. Leurs avantages sont : efficacité, innocuité et propriété de plusieurs brevets. Pharnext est une société biopharmaceutique fondée par des scientifiques et entrepreneurs de renom, dont le Pr Daniel Cohen, pionnier de la génomique moderne. Pharnext développe un autre produit pour la maladie d'Alzheimer.

Information : www.pharnext.com

La FDA et les tests ovariens

Dans un communiqué, la FDA a remis en cause la fiabilité des tests de dépistage du cancer de l'ovaire, commercialisés depuis des années, chez les femmes à haut risque (porteuses de BRCA1 et 2...), car pouvant retarder le traitement. « *Il n'y a pas actuellement de tests pour le cancer ovarien suffisamment sensibles pour dépister ce cancer sans un nombre élevé de résultats imprécis* » (*inaccurate*), selon la FDA. L'agence souligne le risque de retard de traitements actifs chez des femmes asymptomatiques, la pratique de tests ou d'interventions inutiles chez des femmes n'ayant pas ce problème [tout cela s'applique aux USA...]. Le test le plus courant est le CA-125, chez nombre de femmes porteuses du cancer son taux est élevé mais peut l'être dans d'autres circonstances que le cancer, selon l'*American Cancer Society* (ACS). La FDA a publié son avertissement après une revue de plusieurs essais cliniques et les recommandations d'experts indépendants de l'*US Preventive Services Task Force* (USPSTF), et avec le soutien de l'*American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG).

Sources : FDA; ACOG.

L'accréditation, une question de confiance

L'accréditation est universelle, comme aurait dû le rappeler à tous ceux qui y sont soumis la (discrète) 9^e Journée mondiale de l'accréditation le 9 juin 2016, consacrée à l'accréditation au service des politiques publiques, thème d'actualité permanent, nous rappelle le COFRAC, bien connu des biologistes et des LBM.

Le recours à l'accréditation assure aux pouvoirs publics que sont mises en œuvre, maintenues, voire renforcées, la protection de la santé et de l'environnement, la sécurité des biens et des personnes, la lutte contre la fraude, l'équité des marchés et la confiance de la population pour les services et produits qu'elle utilise.

L'accréditation permet en quelque sorte aux pouvoirs publics de déléguer en confiance des activités de contrôle de conformité à des organismes privés ou de simplifier les contraintes réglementaires régulant l'activité économique. C'est aussi une solution adaptée pour optimiser les dépenses publiques tout en maintenant la qualité des services et l'efficacité des politiques publiques.

Dans un contexte global de réduction des dépenses publiques et de recentrage des États sur leurs missions régaliennes, l'accréditation s'est imposée comme un des moyens les plus appropriés et les plus utilisés par les pouvoirs publics dans nombre de pays.

L'accréditation est une procédure impartiale et objective menée par une tierce partie permettant de reconnaître la compétence. En évitant la duplication des vérifications, c'est le moyen le plus transparent et le plus largement accepté pour donner confiance dans la fiabilité des résultats. Tout ce qui est réglementé s'appuie sur l'accréditation.

Bernard Doroszczuk, DG du COFRAC, résume ainsi l'accréditation : *outil essentiel pour donner confiance au public et aux autorités, condition préalable imposée par l'État à l'exercice d'une activité de contrôle, de certification ou d'analyse ; elle a su s'imposer comme soutien aux politiques publiques de contrôle ou de promotion, contribue à la réduction des dépenses publiques et à la simplification des procédures.*

Rappel du COFRAC (Comité français d'accréditation créée en 1994, désigné en 2008 comme instance nationale d'accréditation) : l'accréditation s'adresse aux laboratoires d'essais et d'étalonnages, aux organismes de vérification, aux organisateurs de comparaisons interlaboratoires et producteurs de matériaux de référence, aux laboratoires de biologie médicale et aux organismes d'inspection, de certification ou de qualification. Organisé en 4 sections (certifications, inspection, laboratoires, santé humaine), le COFRAC a atteint 3600 accréditations et missions connexes au milieu de cette année. Des accords multilatéraux font bénéficier l'accréditation française d'une reconnaissance dans plus de 80 pays, favorisant ainsi la libre circulation des biens et des services. ■■

J.-M. M

Source : COFRAC. www.cofrac.fr

Métastases: la réponse immunitaire est la clé

L'équipe de l'UMRS 1138 INSERM Immunologie et cancérologie intégratives (Centre des Cordeliers, Universités Pierre-et-Marie-Curie et Paris-Descartes) a analysé les tumeurs de 838 patients atteints d'un cancer colorectal (CCR) afin d'identifier des marqueurs de potentiel métastatique. Les caractéristiques génomiques des cellules cancéreuses semblent peu pertinentes, mais la vascularisation lymphatique péritumorale et l'intensité de la réponse immunitaire seraient les clés.

Ces éléments pourraient servir de marqueurs prédictifs de l'évolution de la maladie¹.

Les patients cancéreux décèdent rarement de leur tumeur initiale mais de ses métastases, les cellules tumorales ayant une forte capacité à coloniser des organes vitaux. Pourtant on cherche encore à comprendre le processus métastatique, phénomène mal connu. À quoi sont dues les métastases, qu'est-ce qui différencie une tumeur ayant tendance à disséminer d'une tumeur restant locale, est-ce lié aux caractéristiques des cellules tumorales initiales ou à l'environnement, et lequel ?

À propos d'environnement, toute tumeur est entourée des fibroblastes du tissu conjonctif, de vaisseaux sanguins et lymphatiques, et infiltrée par des cellules du système immunitaire de l'hôte. Les auteurs ont analysé le génome de tumeurs primaires et caractérisé leur micro-environnement chez 838 patients atteints de CCR localisé (662) ou métastaté (176).

L'analyse génomique a montré une très forte hétérogénéité entre tumeurs : chaque patient

a son cancer. Si aucun lien n'a été constaté entre la présence de métastases et le type de mutations des gènes liés au cancer, en revanche la densité des vaisseaux lymphatiques est significativement plus faible dans l'environnement de tumeurs ayant métastaté que dans celui des tumeurs restées localisées. De même, on observe un plus faible Immunoscore®, une moindre densité et une moindre fonctionnalité des cellules immunitaires dans les tumeurs ayant métastaté. L'équipe s'est alors intéressée à des patients montrant soit des signes précurseurs de dissémination, soit une tumeur localisée qui a ultérieurement métastaté. Ils ont retrouvé les mêmes caractéristiques que dans les tumeurs déjà métastasées : une moindre densité de vaisseaux lymphatiques et une réponse immunitaire adaptative plus faible. Ces deux paramètres indépendants constituent donc des marqueurs précoces du potentiel métastatique d'une tumeur, et leur analyse combinée pourrait renforcer l'exactitude de la prédiction.

«Les immunothérapies tendant à renforcer la réponse des lymphocytes T améliorent la survie des patients déjà métastasés. Nos résultats montrent qu'elles pourraient aussi bénéficier à des patients atteints de tumeurs localisées mais ayant une réponse immunitaire faible, donc susceptibles de développer des métastases», dit Jérôme Galon, directeur de recherche INSERM, l'un des auteurs de cette avancée des connaissances. ■■

J.-M. M.

1. *The tumor microenvironment and Immunoscore are critical determinants of dissemination to distant metastasis*, Science Translational Medicine, 24/2/2016. Source: INSERM

BRÈVES

Un Monsieur Innovation des ministères sociaux

Le JO du 29/9/2016 annonce l'institution d'un *délégué ministériel à l'innovation en santé* auprès du secrétaire général des ministères sociaux (Affaires sociales et Santé, secrétariats d'État). Sa mission concerne les produits et technologies de santé, la e-santé, les interventions à impact populationnel, la prévention et le médico-social. Elle doit soutenir la politique du ministère en innovations santé, afin d'anticiper et de suivre l'arrivée des innovations et d'évaluer leur impact. Il aura notamment pour tâche d'assurer le suivi des projets interministériels d'innovation en santé, de faire évoluer les dispositifs de soutien, financement et diffusion de l'innovation, de coordonner les actions visant à créer ou faire évoluer les procédures d'évaluation de ces innovations, de piloter les appels à projets pour évaluer les technologies de santé innovantes et coordonner la diffusion d'une information concernant le développement des innovations dans le système de santé. Le délégué peut mobiliser les équipes concernées par l'innovation dans les services du ministère.



© Matthias Enter / Fotolia.com

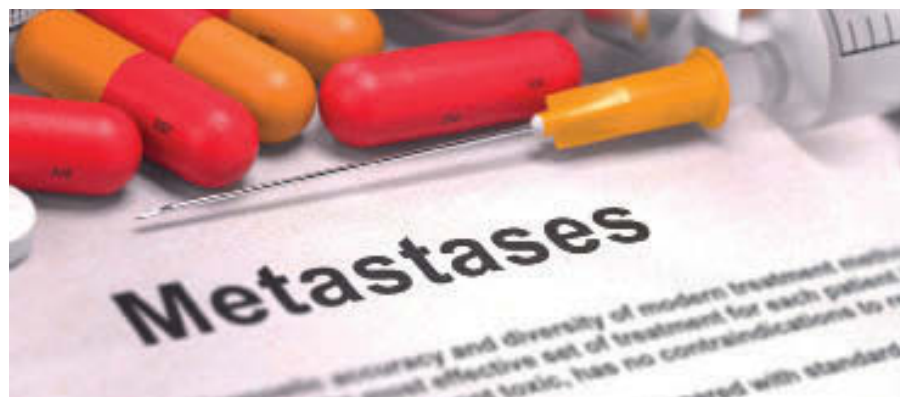
Une biotech pour maladies rares

La biotech française TxCell (Sophia-Antipolis) développe des immunothérapies cellulaires T personnalisées pour le traitement de maladies inflammatoires et auto-immunes chroniques sévères, focalisées exclusivement sur les lymphocytes T régulateurs (Tregs). Les Tregs sont une population cellulaire récemment découverte et dont les propriétés anti-inflammatoires sont désormais établies. TxCell développe 2 plateformes technologiques, ASTrIA et ENTrIA. ASTrIA est composée de Tregs de type 1 spécifiques d'antigène autologues (Ag-Treg). Ovasave®, premier candidat-médicament de TxCell issue d'ASTrIA, est actuellement en essai clinique de phase 2b dans la maladie de Crohn réfractaire. ENTrIA est composée de cellules T régulatrices FoxP3+ génétiquement modifiées avec un récepteur chimérique (CAR-Treg), TxCell mène deux programmes de développement de CAR-Tregs en collaboration avec des centres de recherche européens : dans le lupus rénal avec l'*Ospedale San Raffaele* de Milan et dans la pemphigïde bulleuse avec le *Lübeck Institute of Experimental Dermatology*.



© adimas / Fotolia.com

Information : www.txcell.com



© tashatuvango / Fotolia.com

Zika, maladie professionnelle !

Aux États-Unis, deux organismes-clés de la santé publique, les CDC (*Centers for disease control and prevention*) et l'OSHA (*Occupational Safety and Health Administration*) – chargé de la santé au travail – se sont penchés sur le risque que constitue l'exposition professionnelle au virus Zika, en publiant des recommandations¹ pour protéger les professionnels de santé.

Celles-ci s'adressent autant aux « employés » qu'aux « employeurs » et se justifient du fait de l'expansion internationale (*global spread*) de cette infection virale. Les données actuelles suggèrent que seulement 1 sujet sur 5 porteurs de l'infection à virus Zika développe des symptômes. S'ils sont présents, ceux-ci, généralement modérés (*mild*), débutent de 5 à 7 jours après la piqûre du moustique vecteur : fièvre, rash, douleurs articulaires, conjonctivite, douleurs musculaires, céphalée. En moyenne, ils durent une semaine.

Or durant la première semaine de l'infection, le virus Zika peut être transmis d'un sujet infecté à un autre moustique qui le pique, et qui devient vecteur à son tour. En outre, on sait que le virus est transmissible par le sang (*via* la transfusion) ou d'autres fluides corporels.

« Les employeurs et les professionnels dans les établissements de santé et les



© utemov/Fotolia.com

laboratoires ([LBM] doivent observer une bonne maîtrise (*control*) de l'infection et des pratiques de biosécurité (*biosafety*) comme il convient, pour prévenir ou réduire le risque de transmission des agents infectieux », résumant les recommandations CDC-OSHA. Employeurs et employés vont donc se conformer aux standards de l'OSHA concernant les pathogènes transmis par le sang (*bloodborne pathogens*) et les LBM doivent conformer leurs installations et leurs pratiques au standard de biosécurité (*Biosafety Level*).

Les CDC recommandent aux professionnels de santé de respecter les précau-

tions validées lors de soins aux patients porteurs ou suspects d'infection à virus Zika. Parmi les autres recommandations : conseils pour le lavage et la désinfection des mains, pour l'utilisation de seringues ou d'outils coupants et le risque d'exposition au sang, pour les premiers soins d'urgence en cas de contamination, sous la responsabilité des employeurs, etc. ■

J.-M. M.

1. *Interim guidance for protecting workers from occupational exposure to Zika virus*, Centers for Disease Control and Prevention. 22 avril 2016.

Refus parental de vaccination : en parler



© ASTIER / BSIP

Si des parents refusent la proposition d'un médecin de vacciner leur enfant, le professionnel n'a pas réellement de recours pour les faire changer d'avis, face à des arguments parfois contestables.

Sauf s'il le signale aux autorités sanitaires qui ont prévu le cas : des données préliminaires montrent qu'un règlement prévu par le Michigan a réduit de 39 % le taux de non vaccination global, selon un communiqué de cet État. Le moyen : exiger des parents qu'ils rencontrent un officier de santé pour s'expliquer sur ce refus, voire changer d'avis.

Satisfaction officielle, dans la mesure où ce dialogue [impossible en France ?] améliore, disent-ils, le taux de couverture vaccinale et signifie que davantage d'enfants sont protégés contre des flambées et des maladies sévères qu'on peut prévenir par la vaccination (*vaccine-preventable diseases*). « *Malheureusement*, dit le Dr Eden Wells, directeur médical des services de santé du Michigan, *nous n'avons pas éradiqué certaines des très sérieuses maladies qui touchent les enfants et les adultes et nous assistons encore à des flambées de coqueluche et de varicelle au Michigan comme à l'échelle du pays* » [chez les non-vaccinés].

C'est en 2014 que l'État a instauré le dialogue avec les parents face au nombre alarmant de refus des parents d'enfants d'âge scolaire, sans raison médicale, de la vaccination. Par exemple, plus de 5 % de tous les enfants entrant au jardin d'enfants n'avaient pas les vaccins exigibles. L'entretien avec les parents est entré en vigueur le 1^{er} janvier 2015, exigeant que les parents rencontrent un responsable médical fédéral, pour s'entretenir avec lui des vaccins et des maladies contre lesquelles elles protègent, puis signent un document reconnaissant – s'ils refusent – qu'ils mettent en danger leurs enfants et d'autres personnes. Et la conformité avec le calendrier vaccinal est exigible

du jardin d'enfants à l'Université. La politique de communication a fonctionné, d'où réduction des *désistements* (*waivers*) parentaux à tous les niveaux scolaires et classes d'âge. Depuis l'entrée en vigueur de l'entretien avec les parents, plus de 8 000 désistements [au droit à la vaccination] ont été évités. En assurant aux parents qu'ils pourront discuter du sujet avec un service de santé, on leur fournit les connaissances nécessaires pour prendre une décision sur la vaccination de leur enfant, résume le Département des services sanitaires et humains du Michigan... ■■

J.-M. M.

source: *Healio Infectious Diseases in Children*

Paludisme : un nouveau standard avec la technologie LAMP

Meridian Bioscience a reçu le marquage CE pour illumigene® Malaria, nouveau test de haute précision pour le dépistage du paludisme, annoncé comme 80 000 fois plus sensible que les tests actuels.

De par son innovation et sa technologie pour le dépistage du paludisme, ce test, estime Meridian Bioscience, pourrait révolutionner son diagnostic et instaurer un nouveau standard de référence. À partir de la technologie moléculaire LAMP, les résultats obtenus avec *illumigene® Malaria* sont disponibles en une heure. Le test est simple, n'exigeant pas une expertise technique de haut niveau. Ce diagnostic du paludisme en biologie moléculaire développé par Meridian Bioscience s'appuie donc sur la technologie LAMP (*Loop Mediated Isothermal Amplification*: amplification isotherme en boucle), qui amplifie l'ADN et détecte la présence du parasite du paludisme. La technologie LAMP étant isotherme, elle s'utilise à température ambiante sans nécessité de chauffer les réactifs ou l'échantillon, à la différence des tests de diagnostic rapide de dépistage du paludisme en PCR. En outre, *illumigene® Malaria* ne nécessite pas de réfrigération.

La technologie *illumigene®* est simple, précise et facile à utiliser, en d'autres termes, sans la nécessité d'opérateurs très spécialisés. Les résultats sont généralement disponibles en moins d'une heure.

Les tests *illumigene®* basés sur la technologie LAMP ont par ailleurs des applications dans le diagnostic de maladies infectieuses, notamment l'infection à *Clostridium difficile*, à *Bordetella pertussis*, à *Herpes simplex virus*, autant de cas dans lesquels ces tests ont confirmé leur précision. Meridian Bioscience a voulu associer au développement de son test les centres de contrôle et de prévention des maladies et l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar au Sénégal pour l'aide technique qu'ils lui ont apportée, et notamment le Pr Daouda Ndiaye, expert de parasitologie et de mycologie, et directeur du *Senegal African Centre for Excellence on Genomic and Infectious Diseases*, centre africain d'excellence de génomique et des maladies infectieuses, au sein de cette université.

Pour cet expert reconnu, *illumigene® Malaria* pourrait modifier les pratiques actuelles de dépistage du fait de la disponibilité d'un mode de diagnostic plus rapide et plus précis, un atout dans la lutte contre le paludisme. Un diagnostic précis permet de prescrire un traitement précoce, avec de meilleurs résultats cliniques pour le sujet véritablement atteint, en attribuant les traitements aux sujets qui le nécessitent. « *En raison du portage*



infra-microscopique de la parasitémie dans les populations, explique le Pr Ndiaye, *un outil de dépistage déployé sur le terrain à l'échelle de la communauté, robuste et sensible, est indispensable pour suivre à la trace le réservoir de paludisme dans les régions de pré-élimination : illumigene Malaria offre cette capacité* ».

Le test *illumigene® Malaria* est un immense progrès pour les patients atteints de paludisme. Grâce à un diagnostic plus précis et plus rapide, favorisant un traitement précoce, avec de meilleurs résultats. Le test sera distribué en Europe, au Moyen Orient et en Afrique par Meridian Bioscience Europe, et dans les autres pays par le réseau de distribution mondial de la société. ■■

J.-M. M.

Source: www.meridianbioscience.com

Quand l'intolérance au gluten devient une mode

Y aurait-il une épidémie d'intolérance au gluten aux États-Unis ? Le nombre d'Américains qui se sont mis à un régime alimentaire excluant le gluten a triplé en cinq ans, mais le nombre de patients diagnostiqués d'une maladie cœliaque (complication intestinale de cette intolérance) est resté stable dans le même temps.



© denismaglov/Fotolia.com

Il semble que le régime sans gluten (*gluten-free diet*) soit devenu le régime à la mode alors que le nombre de sujets qui devraient y avoir recours n'a pas bougé. Cette mode, d'ailleurs, se voit également en France, soutenue notamment par la presse féminine sans justification...

En fait, le régime sans gluten serait devenu « tendance » (*trendy*) pour n'importe quel problème digestif non spécifique, selon une étude du phénomène par une équipe de l'École médicale Rutgers à Newark (Dr Hyun-seok Kim, médecine interne, et coll.): « Les gens peuvent avoir une hypersensibilité au gluten ou des symptômes gastro-intestinaux non spécifiques et pensent simplement qu'un régime sans gluten peut soulager leurs symptômes », expliquent les auteurs.

Et voici pourquoi le nombre d'Américains observant un régime sans gluten entre 2009 et 2014 a triplé alors que le diagnostic de maladie cœliaque restait stable durant la même période. Encore que les auteurs n'excluent pas que cette habitude diététique ait pu contribuer au plateau de diagnostics de maladies cœliaques!

Pour cette étude, l'équipe de Newark (New Jersey) s'est référé aux données de l'étude fédérale permanente *National Health and Nutrition Examination Surveys* (NHANES) sur

la santé diététique des Américains, menée par les CDC. Elle a repéré 22 000 sujets à partir de 6 ans d'âge qui avaient subi un test sanguin pour maladie cœliaque. On leur a demandé si on leur avait diagnostiqué une maladie cœliaque ou s'ils suivaient un régime *gluten-free* [pour une maladie avérée]

À partir de cette enquête, les auteurs ont estimé à environ 1,76 million le nombre de patients avec maladie cœliaque aux États-Unis, tandis qu'environ 2,7 millions ont un régime sans gluten alors qu'ils n'ont pas de maladie cœliaque. C'est la preuve que ce régime est devenu une mode, disent les auteurs.

Comme on le lit aussi en France, quand on se soucie de sa santé, pour certain(e)s le régime sans gluten peut aider à la santé générale, d'autres pour soulager de vagues symptômes digestifs... sans avoir consulté un nutritionniste ou un gastroentérologue. Alors, quel régime suivent-ils réellement ? C'est peut-être un régime « moins de gluten » plutôt que « sans gluten »...

Moralité : lire moins la presse people et consulter un spécialiste... ■■

J.-M. M.

Source: *JAMA Internal Medicine*, online, 6/9/2016.

Un candidat-vaccin contre le virus Zika

La biopharma américaine Inovio Pharmaceuticals a publié les premières données précliniques concernant son candidat-vaccin synthétique développé contre le virus Zika en annonçant une réponse immunitaire robuste et durable lors des premiers essais en laboratoire, avec l'espoir de tenter les premiers essais chez l'homme d'ici la fin de l'année...

La société, associée pour ce projet à GeneOne Life Sciences, développeur de vaccins à ADN (Séoul, Corée du Sud) et à des collaborateurs académiques, est confiante quant à la possibilité de prévenir et de traiter l'infection avec son vaccin SynCon®. L'intérêt de cette nouvelle arme est surtout d'éviter les complications parfois sévères de l'infection, la microcéphalie chez les nouveau-nés de mères

contaminées lors de leur grossesse et le syndrome neurologique de Guillain-Barré. Selon le Dr J. Joseph Kim, PDG d'Inovio, l'utilisation de la technologie SynCon® a permis de générer rapidement un vaccin-candidat synthétique qui se montre prometteur en prévention et en traitement, grâce à une réponse anticorps et cellules T killer (objectivées par le test ELISPOT) robuste sur la souris, et sera testé chez des *primates non-humains* avant d'être mis en production en vue d'essais cliniques de phase 1 chez l'Homme avant la fin de 2016, espère-t-il. Avec une possible commercialisation au début de 2018.

Lors de l'étude préclinique le vaccin élaboré avec la technologie SynCon® propre à Inovio a été administré via une technologie également propriétaire d'électroporation Collectra®. Ce vaccin à ADN génère une séroconversion avec développement d'anticorps sériques spécifiques sur tous les animaux testés. Ce constat est essentiel

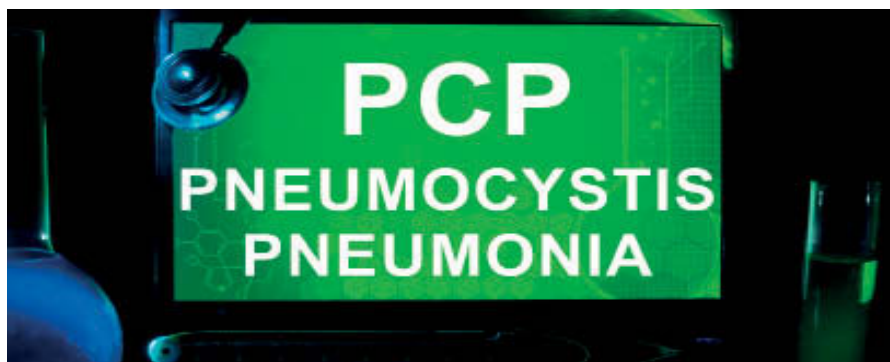
en prévention mais aussi pour éliminer les cellules hébergeant le virus.

Le vaccin anti-Zika d'Inovio a été désigné « percée thérapeutique 2016 » par le magazine spécialisé *Popular Mechanics* et salué comme le vaccin « le plus rapidement jamais arrivé sur le marché » (*the fastest vaccine ever to come to the market*)!

Le virus Zika fait partie de la famille des Flavivirus, qui compte également les virus de la dengue et le West Nile virus, auxquels Inovio s'est intéressé et a publié des données sur l'immunogénicité à leur rencontre avec sa technologie SynCon®, et envisage de développer d'autres vaccins anti-Flavivirus, tel celui de la fièvre jaune. Au début de l'année, l'OMS comptabilisait 39 pays signalant la circulation du virus Zika depuis 2007. ■■

J.-M. M.

Source: *Inovio Pharmaceuticals*.
www.inovio.com



BRÈVES

Des marqueurs cutanés pour le SOMP

Hirsutisme et *acanthosis nigricans* peuvent être considérés comme des marqueurs cutanés faisant soupçonner un syndrome des ovaires micro-polykystiques, selon une étude présentée au congrès annuel de l'Académie américaine de dermatologie à Washington. En leur présence, une exploration hormonale est justifiée, a expliqué une équipe de l'Université de Californie (Timothy H. Schmidt et coll., San Francisco). Dans une étude rétrospective organisée par la *Polycystic Ovary Syndrome Multidisciplinary Clinic* de l'Université de Californie entre mai 2006 et octobre 2012 ont été suivies 401 femmes adressées à la consultation pour suspicion de SOMP. Les examens étaient à la fois dermatologiques et gynécologiques (échographie transvaginale). Résultat : les femmes SOMP avaient une haute prévalence d'hirsutisme (53,3 % vs 31,2 % chez les témoins), d'*acanthosis nigricans* (36,9 % vs 20 %) et d'acné (61,2 % vs 40,4 %). Par ailleurs on notait hypertestostéronémie (40,7 % vs 4,3 %), dyslipidémie, BMI élevé, insulino-résistance. Conclusion : ces signes cutanés justifient une exploration métabolique.

Source : *Healio Internal Medicine*.

HTA de l'enfant, adulte hypertendu

Pré-hypertension (chiffres déjà élevés pour l'âge) et l'HTA chez l'enfant et l'ado sont déjà associées à des atteintes des organes-cibles et la trajectoire (sic) est déjà tracée vers une HTA du jeune adulte, selon un article paru dans *Hypertension* (un organe de l'*American Heart Association*). Abaisser la tension sous 120/80 est-il pertinent chez le jeune hypertendu ? Une tension à 120/80 à l'adolescence est en effet déjà associée à des dommages des organes-cibles qui feront l'HTA de l'adulte : l'adulte hypertendu avait déjà enfant une tension élevée. Inversement l'adulte normotendu à 38 ans l'était déjà (< 120/80) enfant. La prévention de la pré-hypertension/HTA à l'adolescence doit viser < 120/80, et chez l'enfant de moins de 12 ans < 110/70. La cible < 120/80 (visée par l'essai SPRINT : *Systolic Blood Pressure Intervention Trial*) peut être atteinte chez les sujets de 18 ans et maintenue plusieurs décennies, au moins jusqu'à... 75 ans.

Source : Falkner B, Gidding SS, et al. Is the SPRINT blood pressure treatment target of 120/80 mm Hg relevant for children? *Hypertension*. 2016; doi: 10.1161/HYPERTENSION.116.06.934 on line 28/3/2016

Premier séquençage du génome de *Pneumocystis*, agent de la PCP

Des chercheurs du Centre clinique des NIH (*National Institutes of Health*), centre hospitalier de recherche clinique rattaché aux NIH, en collaboration avec des confrères extérieurs, publient le séquençage presque entier du génome des *Pneumocystis* affectant l'Homme, la souris et le rat.

Pneumocystis est responsable d'une pneumonie à risque léthal chez le sujet immunodéprimé : la pneumocystose (PCP) fut l'une des premières infections qui permirent d'identifier l'infection à VIH et le sida, facteur d'infections opportunistes favorisées par l'immunosuppression.

La pneumocystose, responsable de centaines de décès ces 30 dernières années, malgré les progrès du diagnostic et des antirétroviraux, reste un risque significatif chez les porteurs chroniques du VIH, et chez d'autres sujets immunodéprimés, notamment les patients transplantés.

Les travaux du NIH Clinical Center ont été publiés dans *Nature Communication*¹ par le Dr Joseph Kovacs (chef de l'*Acquired Immunodeficiency Syndrome Section, NIH Clinical Center*).

J. Kovacs et coll. ont eu pour objectif de mieux comprendre où le pathogène se réfugie chez l'Homme et comment il échappe au système immunitaire de son hôte. Ceci a permis non seulement l'identification de voies métaboliques essentielles à la croissance et à la survie du pathogène, mais aussi la reconnaissance qu'un grand nombre de voies présentes chez des pathogènes apparentés sont absentes chez *Pneumocystis*. Ces voies auraient probablement disparu, *Pneumocystis* évoluant vers une totale dépendance à ses hôtes pour survivre. « Notre objectif est d'en savoir plus sur l'infection humaine à *Pneumocystis* et de réduire son impact chez les sujets immunodéprimés », explique J. Kovacs.

Cette étude est une étape importante vers cet objectif. Ce que confirme le Dr Liang Ma, co-auteur de l'étude : « Disposer de l'information portée par le génome nous a aidés à reconnaître la biologie inhabituelle de *Pneumocystis* et sa coexistence avec ses mammifères-hôtes » (sic).

Au total, ce travail a abouti à une cartographie des génomes beaucoup plus clairs que dans n'importe quelle étude antérieure. Pour les NIH, les efforts de l'équipe ont abouti au plus haut niveau de qualité de cartographie génomique. La description détaillée des gènes est permise par la qualité de la mise en culture du pathogène, étape-clé de cette recherche. La mise en culture peut aider à tester des candidats-médicaments pour traiter la pneumonie à *Pneumocystis*, et tenter des manipulations génétiques pour modifier certains de ses gènes et observer si elles influent sur sa croissance ou sur son impact sur la santé de l'hôte humain. ■■

J.-M. M.

Source : NIH. Information : <http://clinicalcenter.nih.gov>

1. Genome analysis of three *Pneumocystis* species reveals adaptation mechanisms to life exclusively in mammalian hosts. *Nature Communications*, Volume 7, article number 10740. doi:10.1038/ncomms10740. (22/2/2016). <http://www.nature.com/ncomms/2016/160222/ncomms10740/full/ncomms10740.html>



BRÈVES

Zika: maintenant en région Asie Pacifique



© seaphotoart/Fotolia.com

L'épidémie à virus Zika est une maladie émergente dans la région Asie Pacifique, selon le *Lancet*¹. Tom Frieden, directeur des CDC, a exprimé son inquiétude de l'expansion du virus à Singapour, pays d'Asie doté d'un système de santé perçu comme *puissant et efficace*. Le premier cas d'infection a été détecté le 27 août et le

5 septembre les autorités sanitaires rapportaient déjà 258 cas. La lutte contre le moustique vecteur a été intensifiée, les tests de dépistage sont généralisés à tous les habitants ayant des symptômes évocateurs ainsi qu'à leurs contacts. L'OMS a salué l'intense mobilisation sanitaire de Singapour et a donné ce pays en exemple aux autres États de la région Asie Pacifique, où la circulation large du virus est avérée ou menace de l'être : Indonésie, Thaïlande, Vietnam, Inde, Chine, Pakistan, Bangladesh. L'intensité des voyages inter-États et les conditions climatiques favorables au vecteur, la densité de population ou des ressources de santé insuffisantes créent les conditions d'extension de l'épidémie.

1. vol. 388; n° 10049; p. 1026, 10/9/2016.

Diabète gestationnel: cherchez la dépression



© izab450/Fotolia.com

Une étude des NIH américains propose une relation entre la dépression et le diabète gestationnel. Selon cette lecture d'un sujet depuis longtemps débattu aux USA, les femmes enceintes rapportant un état dépressif

auraient une probabilité de développer un diabète deux fois plus fréquente lors des deux premiers trimestres de grossesse, selon les données des registres de santé. D'un autre côté, on constate que les femmes ayant développé un diabète gestationnel avaient plus de probabilité de rapporter une dépression du post-partum dans les 6 semaines de l'accouchement, comparées à des femmes enceintes n'ayant pas eu un diabète gestationnel. Selon l'un des auteurs de l'étude, le Dr Stefanie Hinkle, du *National Institute of Child Health and Human Development* des NIH, ceci suggère que diabète gestationnel et dépression surviennent en même temps, d'où l'utilité de surveiller l'état psychologique d'une femme enceinte pour guetter... les premiers signes de diabète. Dans cette étude l'obésité n'est pas un facteur de risque de diabète! Un marqueur de risque est le score de dépression.

Spécialités à base d'acide valproïque: séquelles tératogènes indemnisées

Le ministère des Affaires sociales et de la Santé a publié les premiers résultats d'une étude de l'ANSM et la CNAMTS évaluant l'exposition des femmes enceintes, entre 2007 et 2014, aux spécialités à base d'acide valproïque.

Compte tenu du risque de ce traitement pour la descendance des femmes enceintes, de nouvelles conditions de prescription/délivrance seront imposées, un fonds d'indemnisation sera institué et un pictogramme évoquant le risque d'usage durant la grossesse sera apposé sur les boîtes de Dépakine® et de ses dérivés.

L'étude ANSM/CNAMTS a été présentée par la DGS à l'association APESAC, Aide aux parents d'enfants souffrant du syndrome de l'*anti-convulsivant* (allusion à l'indication principale de l'acide valproïque, l'épilepsie). Sur la base des données de l'Assurance-Maladie, elle indique que 14 322 grossesses ont été exposées à l'acide valproïque entre 2007 et 2014. Le deuxième volet de l'étude portera sur les enfants nés des grossesses exposées. Plusieurs mesures ont été prises.

- Mise en place d'un Protocole national de dépistage et de signalement (PNDS), avec prise en charge totale par l'Assurance-Maladie des soins des patients identifiés.
- Sur la base de l'expertise juridique lancée en mars, mise en place d'un dispositif d'indemnisation pour les victimes, qui sera voté au Parlement d'ici la fin de l'année. La mission d'expertise sera amenée à rencontrer le laboratoire Sanofi [producteur de l'acide valproïque].
- Renforcement de l'information sur l'usage de l'acide valproïque lors de grossesse: un pictogramme indiquant son danger durant la grossesse, conçu avec l'APESAC, sera apposé sur les boîtes de médicaments en plus de la notice signalant le risque pour la femme enceinte, ceci dans les mentions

dans les 6 mois, compte tenu des délais de fabrication du conditionnement.

- Création d'une alerte dans les logiciels d'aide à la prescription/dispensation destinés aux médecins et aux pharmaciens.
- Élargissement de ces mesures aux autres traitements de l'épilepsie et des troubles bipolaires [un dérivé de la molécule comporte cette autre indication-NDLR] et réévaluation par l'ANSM de 21 principes actifs anti-épilepsie, et des traitements des troubles bipolaires: le suivi des anti-épileptiques sera réalisé avec l'APESAC.
- Proposition de Registre national des malformations congénitales, à partir des 6 registres existants, qui devrait être présenté en octobre prochain, pour une finalisation en novembre.
- Renforcement des mesures de réduction du risque de l'acide valproïque, par le suivi de la communication des professionnels de santé [notamment les prescripteurs montrés du doigt par certains leaders d'opinion-NDLR], l'information des patientes et les études en cours. ■■

J.-M. M.

1. <http://www.ampliphbio.com/events-and-presentations.html>



Pictogramme indiquant le danger de l'utilisation d'acide valproïque au cours de la grossesse.



Hépatites virales : progrès thérapeutique mais priorité vaccinale

C'est un avertissement de l'Académie nationale de médecine : les hépatites virales sont un fardeau considérable justifiant les recherches fondamentales et cliniques de ces dernières décennies, permettant d'envisager [espérer] leur éradication.

Elles entraînent plus d'un million de décès/an dans le monde et sont responsables à l'origine du 5^e cancer en fréquence : le carcinome hépatocellulaire (CHC), ou cancer primitif du foie. Bilan.

Disponible depuis plus de 30 ans, la vaccination contre le VHB est le moyen de plus efficace pour éliminer progressivement l'hépatite B et l'hépatite D. Contre le VHA, le vaccin inactivé permet depuis une vingtaine d'années d'immuniser enfants et adultes à risque. Contre le VHE, un vaccin recombinant est homologué et commercialisé depuis 2011 pour les sujets à risque de plus de 16 ans... mais seulement en Chine. Contre le VHC, enfin, des résultats prometteurs ont été obtenus dans le cadre du projet *Hepatibivax* à Tours avec un candidat vaccin bivalent combinant les protéines d'enveloppe du VHB et du VHC.

Dans le cas de l'hépatite B, le traitement

permet actuellement de suspendre la répllication virale et la progression de l'hépatopathie, mais il faut développer de nouvelles molécules pour éradiquer le virus avant l'âge de 50 ans pour une guérison complète. Les progrès sont beaucoup plus spectaculaires dans le traitement de l'hépatite C avec l'utilisation combinée des antiviraux d'action directe, ciblant des mécanismes de répllication virale, entraînant l'éradication et la guérison dans plus de 95 % des cas.

Pour l'Académie, si la France est *pionnière* concernant les différentes méthodes de maîtrise des hépatites virales, la France a paradoxalement la population la moins bien protégée du fait de polémiques infondées contre la vaccination, comme l'a démontré, en juin dernier, le non-lieu requis par le parquet de Paris dans l'enquête sur le vaccin contre l'hépatite B, faute de lien établi

entre la vaccination et le déclenchement de certaines pathologies neurologiques. L'Académie se félicite des progrès thérapeutiques mais considère que, ne serait-ce que du fait de leur coût très élevé, la vaccination reste la solution la plus efficace pour envisager l'élimination des hépatites aiguës et chroniques. D'où ces deux recommandations :

- améliorer l'application de la vaccination anti-VHB et en poursuivre le rattrapage jusqu'à l'âge adulte afin de limiter la *perte de chance* vis-à-vis du risque de cirrhose et de CHC aux âges exposés à un risque maximal d'infection ;
- mettre en œuvre une véritable politique de dépistage des porteurs du VHB et du VHC, l'efficacité des traitements actuels permettant d'envisager la suppression de ce réservoir, d'autant que 55 % et 40 % de sujets porteurs respectivement du VHB et du VHC en France ignoreraient leur statut. ■■

J.-M. M.

Source : Académie nationale de médecine Communication.

Un réseau français de séquençage de l'ADN

Dans un communiqué, l'Académie nationale de médecine et l'Académie des technologies se félicitent de la décision du gouvernement, capitale pour l'avenir de la médecine, de créer 12 centres de séquençage de l'ADN des patients aux fins de recherche et de soins, annonce faite, qui devraient réduire le retard de la France sur d'autres pays avancés dans ce domaine.

Les deux Académies avaient collaboré dans un groupe de travail commun sur ce sujet important dès 2013 et avaient recommandé, dans leur rapport publié en février dernier¹ une *expérimentation grandeur nature* de ces technologies nouvelles, porteuses de grands espoirs pour le traitement des malades atteints du cancer via cette nouvelle approche dite aussi *médecine personnalisée*, qui consiste à tenir compte de la connaissance de la



©Dan Race/Fotolia.com

séquence de tout ou partie du génome d'un patient à des fins de diagnostic et de pronostic orientant le meilleur choix thérapeutique.

Par ailleurs le développement à l'échelle nationale d'une grande capacité de séquençage des génomes aura des conséquences importantes pour le diagnostic des maladies rares, devenu plus fiable et applicable à un plus grand nombre d'entre elles, ainsi qu'à la recherche les concernant, alors qu'un 3^e Plan maladies rares a été annoncé.

Les techniques de séquençage de l'ADN, nées à la fin des années 1970, se sont automatisées au cours du projet Génome Humain (HUGO, années 1990) pour devenir d'exécution rapide et hautement performantes. On parle aujourd'hui de séquençage de nouvelle génération, en abrégé NGS (*Next generation sequencing*). Le coût du nucléotide séquencé a été divisé par 100 000, et le temps d'acquisition des données génomiques extrêmement réduit.

Ces progrès répondent aux exigences d'une approche clinique des maladies humaines et d'une médecine personnalisée ou de précision. Le recours aux données du séquençage génomique du patient permet dans un nombre croissant de cas d'affiner le diagnostic et le pronostic, et de choisir le traitement le plus adapté à sa pathologie. ■■

J.-M. M.

1. Rapport disponible sur www.academie-technologies.fr et www.academie-medecine.fr

Dispositifs médicaux: une baisse brutale des tarifs, l'ambulatoire en danger

Selon son propos, le Syndicat national de l'industrie des technologies médicales, le SNITEM, a découvert avec stupéfaction le projet du Comité économique des produits de santé (CEPS) de baisse brutale (10 %) du prix d'environ 250 dispositifs médicaux/prestations inscrits à la Liste des produits et prestations remboursables (LPPR) par la Sécurité sociale.

Le SNITEM dénonce un avis de projet non concerté, sans évaluation économique et sanitaire, laissant aux entreprises peu de temps pour communiquer leurs observations. Où est l'esprit de dialogue entre le gendarme économique de la santé et les entreprises de santé ?

Les baisses proposées, soit -10 % des tarifs actuels en moyenne, frapperont très lourdement les entreprises du dispositif médical, et leur compétitivité sur ce marché et leur savoir-faire, notamment, insiste le SNITEM, parce que 94 % sont des PME/TPE (petites et moyennes entreprises, très petites entreprises), qui sont pour l'essentiel positionnées sur des marchés de niche. C'est-à-dire des marchés restreints: le dispositif médical ce n'est pas l'industrie automobile!

Aussi ne peuvent-elles pas réaliser les mêmes économies d'échelle que d'autres secteurs d'activité. Alors que ces entreprises sont déjà sous pression économique, contribuant largement aux objectifs de maîtrise des coûts, ces baisses



© DragonImages/Fotolia.com

endommageraient tout un tissu industriel qui emploie 65 000 personnes et fait vivre un important réseau de sous-traitants et distributeurs, et menaceraient ainsi l'offre dans les secteurs touchés.

Peut-on imaginer que de telles baisses n'auront pas d'impact sur l'équilibre économique des produits et la diversité des gammes proposées, au risque de pénaliser injustement les utilisateurs, insiste le SNITEM. Car les dispositifs médicaux et les prestations visés aident à la prise en charge de millions de patients en France, dans des domaines thérapeutiques importants: diabète, apnées du sommeil, troubles de la continence, escarres, dénutrition, stomies, orthopédie, etc.

Ces entreprises doivent tenir compte par ailleurs de la modification de la réglementation européenne, qui vient de faire l'objet d'un accord entre les états membres: c'est une modification extrêmement lourde des exigences réglementaires, qui nous impose des coûts très importants, disent les industriels du dispositif médical. Le projet de baisse de prix est donc d'autant plus incompatible avec les coûts engendrés par la mise en conformité des produits avec les nouvelles exigences européennes. En conséquence, le SNITEM² demande le retrait de ce projet de baisse tarifaire.

Si ce projet allait au bout, il contredirait totalement l'objectif du gouvernement actuel de développer davantage le soin ambulatoire: absurde alors que nombre des produits visés sont indissociables de la prise en charge ambulatoire, notamment à domicile (HAD), à la qualité des soins, à l'efficacité du système de soins ou encore au développement industriel, tels que prévus par le Plan Médecine du futur de la présidence de la République ou les travaux des industries de santé¹.

J.-M. M.

1. Conseil stratégique des Industries de Santé (dont celles du DMDIV)

2. Créé en 1987, le SNITEM rassemble les acteurs de l'industrie des technologies et dispositifs médicaux. Il fédère quelque 400 entreprises françaises et internationales. C'est la première organisation en France représentant les entreprises de ce secteur. www.snitem.fr

SEP: une piste française pour sa prévention

Une avancée en prévention de la sclérose en plaques (SEP) a été proposée, selon un travail publié cet été par une équipe française, résumé par l'INSERM sous ce titre: un anticorps-médicament contre la sclérose en plaques.

L'équipe est celle de l'unité INSERM U919 du Pr Denis Vivien (Sérine protéases et physiopathologie de l'unité neurovasculaire) à Caen. Elle a développé un anticorps

possédant des effets thérapeutiques potentiels contre la SEP. L'étude, dirigée par Fabian Docagne et publiée dans *Brain*, ouvre la voie à une nouvelle stratégie face à la SEP.

Rappel: la SEP touche le système nerveux central, en particulier cerveau et moelle épinière. C'est la cause la plus fréquente d'invalidité d'origine neurologique chez l'adulte jeune. La maladie est considérée comme auto-immune: les cellules de l'immunité, en particulier les lymphocytes, entraînent la destruction de la gaine de

myéline qui protège les axones des neurones.

Cette démyélinisation, qui marque le début d'une dégénérescence de l'axone, perturbe la transmission de l'influx nerveux. Les lésions en plaques sont dispersées au niveau du cerveau et de la moelle épinière. Les symptômes sont variables selon les patients. Le plus souvent, la SEP se manifeste par poussées, accompagnée de troubles moteurs, sensitifs et cognitifs, qui régressent en quelques semaines. Avec l'évolution, ces symptômes peuvent évoluer

vers un handicap irréversible. Les traitements actuels réduisent les poussées et améliorent la qualité de vie des patients, sans influence sur la progression de la SEP.

Pour que les cellules du système immunitaire circulant dans le sang atteignent le système nerveux central, elles doivent franchir les barrières hémato-encéphalique et hémato-médullaire. Lors d'études sur un modèle souris d'AVC, l'équipe de l'U 919 a retenu un acteur participant à l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique, le récepteur NMDA. Il a été observé que le blocage de l'interaction de ce récepteur avec le tPA (protéine de la famille des protéases à sérine) a des effets bénéfiques liés au maintien de l'intégrité de la barrière. Dans cette étude, les chercheurs ont élaboré une stratégie pour bloquer l'interaction du tPA avec le récepteur, dans le cas de la SEP. Ils ont développé en laboratoire un anticorps monoclonal (ACM), le Glunomab® (ils l'ont breveté), dirigé contre le site spécifique du récepteur NMDA auquel se lie le tPA.



© Alextype/Fotolia.com

Sur des modèles cellulaires de barrières hémato-encéphalique et hémato-médullaire humaines, on observe que l'ACM empêche l'ouverture de la barrière en condition inflammatoire, limitant le passage des lymphocytes. L'équipe a testé les effets thérapeutiques de l'ACM sur un modèle souris de SEP. Après une injection intraveineuse du Glunomab®, la progression des troubles moteurs (paralysie partielle ou totale des membres), évaluée par un score clinique, est bloquée, cet effet étant associé à une réduction de l'infiltration lymphocytaire du tissu nerveux, et de la démyélinisation.

En prévenant ainsi la destruction de la myéline par les cellules immunitaires, cette stratégie pourrait représenter une approche thérapeutique prometteuse de la SEP. Une demande de brevet d'INSERM Transfert en vue du développement du Glunomab® par un industriel de santé. ■■

J.-M. M.

Source: INSERM Communication

BRÈVES

Des anti-épileptiques sans risque tératogène



© Design Praxis / Fotolia.com

L'usage des anti-épileptiques levetiracetam et topiramate chez les femmes enceintes n'exposerait pas leur enfant à un risque neuro-tératogène, selon une étude britannique, qui rappelle le risque pergravidique du valproate (Depakote® en Grande Bretagne). Le traitement de l'épilepsie chez la femme enceinte ou envisageant une grossesse doit optimiser leur santé autant que celle du fœtus, résument les auteurs (Rebecca Bromley et coll., *Institute for Human Development*, Université de Manchester). L'étude a montré que les enfants exposés in utero au levetiracetam ou au topiramate ne diffèrent pas des enfants non exposés de femmes-témoins non traitées. Cette étude a sélectionné dans le registre britannique *Epilepsy and Pregnancy* 171 femmes épileptiques ayant des enfants de 5 à 9 ans : durant leur grossesse 42 ont reçu du levetiracetam, 27 du topiramate et 47 du valproate. C'est chez ces dernières que les enfants ont le moins bon score de QI vs les enfants de femmes ayant reçu levetiracetam ou topiramate et vs les enfants de femmes non traitées.

Source : *Neurology on line*, 31/8/2016.

Premier traitement du MERS en essai clinique



© Ondip / Fotolia.com

Aux USA, les NIH évaluent un traitement-candidat du MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus*), ou syndrome respiratoire du Moyen-Orient à Coronavirus, proposé par la biopharma SAB Biotherapeutics. Cet essai de phase 1 est conduit par les NIH pour évaluer le dosage et la sécurité de ce traitement, à base d'anticorps humains, ou SAB-301. Le MERS-CoV est une maladie respiratoire récemment découverte, il n'existe encore ni vaccin ni traitement. SAB Therapeutics produit le SAB-301 sur sa plateforme DiversitAb®, à partir de bétail génétiquement modifié (Tc Bovine®) pour produire de grandes quantités d'anticorps polyclonaux humains (immunoglobuline G) en réponse à l'administration de l'antigène viral du MERS. Les bovins produisent rapidement d'importantes quantités d'anticorps humains, recueillis dans le plasma et purifiés Selon SAB, la plateforme DiversitAb® est la première à partir de laquelle des anticorps entièrement humains ont été produits sur de grands animaux. Les premiers résultats devraient être publiés début 2017

Source : www.sabbiotherapeutics.com

Maladie de Lyme : un plan de lutte, enfin !

La ministre de la Santé a présenté le 26 septembre le Plan national tant attendu par le corps médical de lutte contre la maladie de Lyme et autre pathogènes transmises par les tiques. Ce plan national était en effet réclamé d'urgence par les praticiens concernés et les associations de patients, qui jugent que la France n'a pas suffisamment pris en compte la gravité de la pathologie, donné les moyens de prévention, de recherche et de dépistage et intégré les données épidémiologiques¹.

En résumé, « ce plan vise à éviter le sentiment d'abandon et l'errance thérapeutique auxquels sont confrontés des malades... il permet de mieux comprendre la maladie, de soigner plus efficacement les patients et de mobiliser tous les outils disponibles pour prévenir la maladie ».

- Le Plan national anti-Lyme renforce l'information de la population et des professionnels de santé pour prévenir l'apparition de nouveaux cas. Ce volet comporte :
 - l'installation par l'Office national des forêts (ONF) et l'agence Santé Publique France² de panneaux d'information pour les promeneurs et les randonneurs à l'entrée des forêts ;
 - la mise en place d'une application pour téléphone portable permettant de signaler la présence de tiques, à l'instar du dispositif existant pour les moustiques ;
 - le développement des actions d'information de la population et de formation des professionnels de santé sur les maladies transmises par les tiques, sous forme d'affiches, de dépliants...

- Le Plan vise à améliorer le diagnostic et la prise en charge des malades pour mettre fin à l'errance médicale [et diagnostique] avec :
 - la mise à disposition des médecins d'un bilan standardisé décrivant la liste des examens permettant un diagnostic complet chez toute personne présentant des symptômes évocateurs ;
 - la mise en place d'un Protocole national de diagnostic et de soins (PNDS), élaboré avec les associations, pour assurer une prise en charge standardisée et remboursée des malades ;
 - l'ouverture en 2017 de Centres de prise en charge spécialisés, regroupant toutes les spécialités impliquées et chargés également de la formation des professionnels.



- Le Plan mobilise enfin la recherche afin d'améliorer les connaissances sur la maladie de Lyme et les autres vecteurs de maladies transmises par les tiques ; seront ainsi :
 - encouragée la mise en place d'une cohorte de patients suivis dans les Centres de prise en charge spécialisés, pour améliorer les connaissances scientifiques sur la maladie ;
 - développée les recherches autour du diagnostic par l'Institut Pasteur ;
 - menées des recherches approfondies dans le cadre de OH! TICKS, programme visant à mieux connaître l'ensemble des maladies transmises à l'homme par les tiques, à identifier les symptômes cliniques et à fournir des outils pour une meilleure prise en charge des malades. ■■

J.-M. M.

En savoir plus :

fiche de synthèse du Plan national de lutte contre la maladie de Lyme sur http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/synthese_lyme_v_aes_290916.pdf

1. À lire : L'Obs n° 2697 (11-20/7/2016) : Maladie de Lyme, l'épidémie qu'on vous cache, 100 médecins lancent l'alerte, sur www.nouvelobs.com
2. www.santepubliquefrance.fr

LIVRES

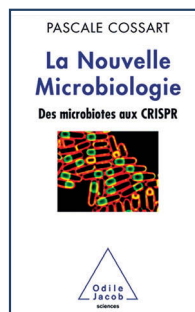
La Nouvelle Microbiologie

Des microbiotes aux CRISPR

Selon Pascale Cossart, microbiologiste émérite, les microbes ne sont plus ce qu'on pensait qu'ils étaient. La microbiologie a changé de visage : les microbes, en particulier les bactéries, sont d'une grande diversité, plus souvent bénéfiques que pathogènes, vivant en sociétés complexes, capables de communiquer entre eux, d'interagir et de participer à des symbioses avec les organismes qu'ils colonisent. Plante, animal ou Homme, le rôle des *biofilms* et des *microbiotes*, véritables *sociétés de bactéries*, est reconnu et les stratégies des *Listeria*, salmonelles et autres staphylocoques dorés, d'une incroyable sophistication, dévoilent leurs secrets. C'est d'ailleurs en étudiant le système immunitaire d'une bactérie qu'a été mis au point le système CRISPR/Cas9, *couteau suisse moléculaire* puissant permettant d'éditer l'ADN à la manière d'une machine à traitement de texte. Les bactéries ? Des êtres vivants en pleine révolution. De la résistance aux

antibiotiques aux bactéries lumineuses du calamar, de l'éradication des moustiques vecteurs du paludisme aux bactéries *terroristes* et aux mystères du microbiote intestinal, c'est à un tour d'horizon de la microbiologie qu'invite Pascale Cossart, mondialement réputée, qui s'adresse à ceux, même non-scientifiques, voulant découvrir le monde fascinant des bactéries. Professeur à l'Institut Pasteur, titulaire de prix internationaux, secrétaire perpétuel de l'Académie des sciences, ses travaux portent sur les stratégies des bactéries pathogènes intracellulaires et leurs mécanismes de régulation. ■■

Pascale Cossart. - Éditions Odile Jacob.
255 p. www.odilejacob.fr



Comprendre la cellule cancéreuse pour mieux la combattre

Un défi lancé à la recherche fondamentale

L'originalité de ce livre est son *approche généraliste* qui, sans entrer de manière détaillée sur tel aspect du sujet, tente de globaliser les connaissances en plaçant la cellule cancéreuse sous le projecteur des diverses disciplines biologiques. Après un rappel des dérèglements

génétiques accompagnant la cancérisation, les rapports entre la cellule maligne et l'organisme sont exposés. L'auteur compare le comportement de la cellule cancéreuse avec celui des cellules saines lors de l'embryogenèse, de la cicatrisation, de la régénération, du développement du système immu-

nitaire. Il étudie le métabolisme altéré des cellules cancéreuses. Enfin, les liens entre inflammation, immunité et cancer sont discutés. Les méthodes préventives et curatives sont présentées et le problème de la signification biologique du cancer est posé. L'ouvrage a des qualités novatrices originales sur le plan des concepts et des idées, il envisage un prolongement en biologie fondamentale et appliquée. C'est la synthèse des approches médicales et biologiques du sujet. L'auteur, professeur agrégé de sciences biologiques, fait la synthèse des connaissances sur la cellule cancéreuse. Il intéressera particulièrement les chercheurs en médecine translationnelle et en biologie oncologique. ■■

Pr Jean-Yves Piatier. Éditions EDP Sciences.
145 p. www.edpsciences.org



AGENDA

novembre-décembre 2016

Bio-Europe (biotechnologies)

7-9 novembre 2016

Cologne (Köln)

<https://ebdgroup/knect365.com/bioieurope>

Colloque international cancers et nanotechnologies

9-10 novembre 2016

Paris Bourse

<http://www.e-cancer.fr/Actualites-et-evenements/Agenda/Nanotechnologies-et-recherche-en-cancerologie>

[inscription obligatoire]

MEDICA 2016

16-19 novembre 2016

Düsseldorf

www.medica.de

Semaine mondiale pour un bon usage des antibiotiques

16-22 novembre 2016

www.who.int/mediacentre/events/2015/world-antibiotic-awareness-week/event/fr/

International severe asthma forum/ ISAF 2016

17-19 novembre 2016

Manchester

www.eaaci-isaf.org

Symposium Infectious diseases in children

19-20 novembre 2016

New York

www.IDC/NewYork.com

Biosimilars Europe congress

22-23 novembre 2016

Londres

www.researchandmarkets.com/research/mv3gdc/biosimilars

OMS World AIDS Day/Journée mondiale du sida

1^{er} décembre 2016

<http://www.who.int/campaigns/aids-day/2015/event/fr/>

SPILF-SFGG: VIH et sujet âgé

1/12/2016

Nantes

inscription : C.Cheneau@infectiologie.com

Journées de biologie praticienne

2-3 décembre 2016

Paris

www.feuilletsdebiologie.fr



Un antagoniste du récepteur du PAF, nouveau traitement de l'épilepsie ?

Dans une période très troublée où il est avéré que certains antiépileptiques administrés aux femmes enceintes sont mis en cause dans la survenue de malformations chez le fœtus et de formes d'autisme plus tard dans la vie, la découverte d'un nouveau traitement potentiel de l'épilepsie est d'actualité.

Une étude américaine récente, publiée le 22 juillet 2016 dans *Scientific Reports*, une publication du groupe *Nature*, émanant d'une équipe du *Neuroscience Center of Excellence* de l'Université de Louisiane, apporte des arguments expérimentaux en faveur du rôle du facteur d'activation plaquettaire (*Platelet Activating Factor*/PAF) et de son récepteur (PAF-R) dans le dysfonctionnement de neurones impliqués dans les épilepsies du lobe temporal, également dénommées épilepsies limbiques.

L'épilepsie survenant dans lobe temporal est une forme d'épilepsie très fréquente et grave. La zone touchée se trouve au niveau de l'hippocampe, qui joue un rôle central dans la mémoire et la navigation spatiale. Ces formes d'épilepsies sont associées à différentes causes dont une sclérose de l'hippocampe, des anomalies vasculaires, des malformations cérébrales congénitales, des tumeurs ou encore à des mutations. Elles sont habituellement traitées par le recours aux anti-épileptiques mais, dans les cas d'inefficacité ou de résistance au traitement, la chirurgie se révèle souvent efficace. C'est l'inefficacité de certains traitements ciblant avant tout les symptômes/crises, et non leurs causes, qui a conduit l'équipe de N. Bazan à étudier, dans un modèle expérimental murin,

les mécanismes cellulaires et moléculaires conduisant au dysfonctionnement des neurones au cours de l'épileptogenèse limbique. Lors des crises épileptiques, les épines dendritiques constituant la région réceptrice de la plupart des synapses excitatrices peuvent

Son administration sur un modèle souris restaure l'intégrité des épines dendritiques, réduit l'hyperexcitabilité neuronale et prévient de nouvelles crises épileptiques.

être endommagées, voire dysmorphiques. Leurs reconnections anormales entraînent alors une hyperexcitabilité synaptique participant au processus pathologique. Les auteurs de cette étude montrent que le facteur d'activation plaquettaire (PAF), un phosphoglycéride rapidement synthétisé lors d'une stimulation du cerveau et capable de moduler l'activité synaptique, était augmenté après la crise épileptique.

Le *silencage* moléculaire du gène codant le récepteur du PAF chez des souris transgéniques PAF-R-/- conduit à une forte diminution des symptômes généralement observés

au cours de la crise. De même, l'administration d'une molécule synthétique (LAU) antagoniste de ce récepteur provoque des effets similaires chez des souris soumises à une dose convulsive de pentétilazole (PTZ) et augmente leur survie. De façon intéressante, on observe que cet antagoniste atténue la neuro-inflammation, restaure l'intégrité des épines dendritiques et diminue l'hyperexcitabilité neuronale ainsi que la survenue des crises épileptiques pendant une durée de 100 jours après le traitement. Les auteurs proposent l'hypothèse selon laquelle une trop forte signalisation du PAF via l'activation de son récepteur participerait au processus épileptique.

Ainsi, le couple PAF/PAF-R pourrait être une cible thérapeutique prometteuse non seulement dans le traitement, mais également dans la prévention, de certaines formes d'épilepsies. Les auteurs étudient actuellement si de tels antagonistes pourraient moduler la plasticité cérébrale dans d'autres neuropathies.

Comme habituellement, la route vers une solution thérapeutique appliquée à l'Homme sera longue, si elle est possible... En effet, inhiber la signalisation induite par le PAF est loin d'être une démarche anodine, compte tenu de son rôle clé dans l'agrégation plaquettaire... Cependant, compte tenu de son efficacité chez la souris, cette nouvelle piste mérite d'être approfondie. ■■

Musto A.E., et coll. *Scientific Report* 2016; 6:30298 | DOI: 10.1038/srep30298.

Améliorer les CAR pour orienter l'immunothérapie des tumeurs solides

Les cellules T dites *CAR-T cells* (*chimeric antigen receptor*) sont des lymphocytes T prélevés chez un patient et modifiés génétiquement *in vitro* pour exprimer un récepteur artificiel, dit chimérique, avant leur réinjection à celui-ci. Ce récepteur chimérique est développé pour reconnaître un antigène spécifique de la cellule tumorale grâce à sa partie extracellulaire, et pour activer le

lymphocyte, une fois la cellule tumorale reconnue, grâce à des domaines d'activation et de co-activation présents dans sa partie intracellulaire. Différentes générations de *CAR-T cells* avec des constructions plus ou moins sophistiquées, intégrant différents domaines d'activation et de co-activation tels que CD28 ou 4-1BB, ont été ainsi développées pour tuer les cellules tumorales.

Cette stratégie thérapeutique, qui s'est avérée comme une véritable révolution dans le traitement des leucémies aiguës lymphoïdes B grâce à la reconnaissance de l'antigène CD19, semble cependant peu efficace dans le cas des tumeurs solides. En effet, pour limiter l'activation des lymphocytes et pour éviter qu'une réponse immunitaire trop forte ne s'attaque aux cel-

lules saines, la nature a développé un système de contrôles, dénommés *checkpoints*, que les cellules tumorales détournent pour se protéger. Une des stratégies actuelles pour déjouer cette immunité pro-tumorale sont des anticorps dirigés contre la voie de signalisation PD1/PDL1 (*Programmed Death-1/Programmed Death-Ligand1*), un *checkpoint* de la tolérance immunitaire. Dans une étude publiée en juillet 2016 dans *The Journal of Clinical Investigation*, L. Cherkassky et coll. ont étudié les raisons de l'inefficacité des CAR-T dans un modèle murin de mésothéliome pleural ou cancer de la plèvre. Ils ont en particulier recherché si et comment il était possible de contrecarrer plus efficacement l'immunité pro-tumorale médiée par le récepteur PD-1. Dans cet objectif, les auteurs ont inhibé la signalisation PD1/PDL1 en utilisant différentes techniques allant du « *silencing* » moléculaire (shRNA) à la transfection d'un dominant négatif du récepteur PD1 (PD-1 DNR) qui exerce une compétition au niveau de la liaison des ligands PD-L1 et PD-L2 à son récepteur. Ainsi, par une approche combinant une stratégie de costimulation et d'inhibition

de PD1/PDL1 par PD-1 DNR, les auteurs ont permis aux lymphocytes de conserver une activité cytolytique et proliférative suffi-

Le blocage de la voie de signalisation du checkpoint PD1/PDL1, une stratégie pour améliorer l'efficacité des lymphocytes T CAR dans le traitement des tumeurs solides.

samment élevée pour contrecarrer les effets inhibiteurs induits par le(s) ligand(s) de PD-1 exprimé(s) par la tumeur. Ce qui apparaît intéressant, c'est que les auteurs montrent qu'une seule injection de ces *super CAR* favorise une plus longue survie sans tumeur des souris injectées. Ce qui contraste avec le fait que plusieurs injections d'anticorps anti-PD-1 sont nécessaires pour obtenir

des résultats similaires.

Les auteurs soulignent que les mécanismes de défense pro-tumorale sont plus complexes que le seul effet de PD-1, et que d'autres processus inhibiteurs, qui restent à étudier, sont très vraisemblablement impliqués. Ils suggèrent, de façon plus générale, qu'il serait prometteur d'associer aux éléments de co-stimulation, des inhibiteurs d'autres checkpoints tels que LAG-3 ou CTLA-4, pour potentialiser l'efficacité des cellules CAR T et mieux déjouer les mécanismes de défense mis en place par les tumeurs. Il restera cependant à maîtriser les effets secondaires de tels inhibiteurs et, en particulier, ceux d'ordre dysimmunitaires.

Ce travail montre une fois encore que, dans le domaine du cancer, les recherches ne doivent plus uniquement cibler les cellules tumorales, mais qu'elles doivent également prendre en compte leurs interactions avec leur environnement et, en particulier, avec les cellules du système immunitaire. ■■

Cherkassky L., et coll. *J Clin Invest*. 2016 Aug 1;126(8):3130-44. doi: 10.1172/JCI83092. Epub 2016 Jul 25.

Nouvellement identifié un gène du VIH-1 associé à sa diffusion pandémique

L'explosion pandémique du virus de l'immunodéficience humaine du groupe 1 (VIH-1) reste encore mal expliquée sur le plan moléculaire. Cette pandémie est liée à différents sous-types et formes recombinantes appartenant au groupe M du virus, alors que les autres groupes du VIH-1 (groupes N, O et P) connaissent une diffusion extrêmement restreinte dans la population humaine. Il est à noter que les quatre groupes de VIH-1 résultent de quatre transmissions inter-espèces, du singe à l'Homme, chaque groupe étant issu d'un virus simien (SIV).

Un dixième gène dans le génome des VIH-1 avait été décrit en 1988. Ce gène, inclus dans celui de l'enveloppe mais porté par le brin antisens de l'ADN proviral, code une protéine dénommée

ASP (*anti-sense protein*). L'existence de ce gène et de cette protéine est restée longtemps controversée. Toutefois, plus récemment, il a été rapporté que cette protéine était effectivement produite par les cellules infectées par le VIH-1 et qu'une réponse immunitaire dirigée contre des épitopes de cette protéine pouvait être caractérisée chez des sujets infectés.

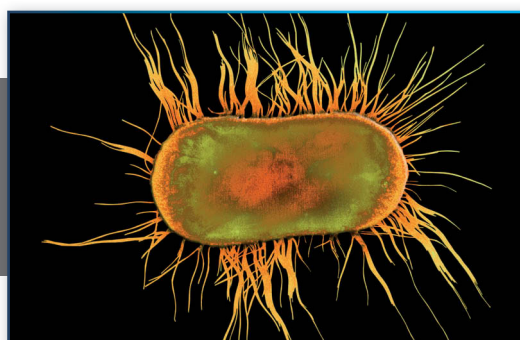
Une équipe du CNRS à Montpellier vient de montrer, par analyse de 23 000 séquences génomiques de VIH-1 des quatre groupes et des SIV précurseurs, que le gène ASP n'était présent que dans les virus du groupe M (pandémique), selon une prévalence variable selon les sous-types, ainsi que dans le SIV précurseurs du groupe M, mais était absent dans les autres groupes non pandémiques du virus.

Ces données indiquent que le gène ASP est apparu récemment dans le génome du VIH-1, de manière concomitante à l'émergence du groupe M responsable de la pandémie. Toutefois, ce gène est absent dans 16 % des génomes des virus du groupe M, ce qui indique qu'il n'est pas indispensable à la viabilité du virus. Ce gène pourrait jouer un rôle dans la pathogénicité et la diffusion du VIH-1. Toutefois, les fonctions de cette protéine restent inconnues à ce jour, ce qui ouvre un nouveau champ de recherches pour élucider par quels mécanismes la présence de ce gène favoriserait la diffusion pandémique du VIH-1. ■■

Cassan E, et coll. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016 Sept 28. Pii : 201605739 [Epub ahead of print].

Escherichia coli

Marie Laure Joly Guillou^a



AVANT-PROPOS

E*scherichia coli* est sans doute l'une des bactéries la plus connue au monde depuis sa découverte en 1855 par Theodor Escherich. Plus souvent connue sous le nom de colibacille dont le nom est également associé à « colibacillose » pour les phénomènes pathologiques liés à cette bactérie, elle occupe notre espace digestif et se rend fréquemment responsable de la cystite de la femme mais également de pathologies diverses extra ou intra digestives. L'objectif de cette revue est d'aborder *E coli* dans tous ses états, ce qui implique de se poser la question fondamentale suivante : *E coli* est-il notre ami ou notre ennemi ? C'est toute la dimension contradictoire de cette question que nous avons voulu aborder au travers des différents articles que vous lirez dans ce numéro. Le premier article offre une vision globale de cette question en balayant largement le rôle d'*E coli* au sein du monde médical d'aujourd'hui. Les recherches concernant le microbiote auquel *E coli* appartient et qui représente un pilier de notre

physiologie pas seulement digestive ont permis aux chercheurs de mieux situer le rôle de cette bactérie bien au-delà de l'infectiologie, sur les rives des maladies inflammatoires de l'oncologie et de la neuropsychiatrie. *E coli* n'est pas seulement un pathogène opportuniste, c'est également une machinerie vivante que les industriels, associés aux chercheurs ont réussi à domestiquer pour la faire travailler à notre profit. Depuis toujours, son exceptionnel pouvoir de division et l'étonnante plasticité de son génome en ont fait la bactérie « Star » des centres de recherche. De très nombreuses applications sont aujourd'hui réalisées faisant d'*E coli* notre partenaire industriel dans la fabrication d'hormones, d'anticorps monoclonaux ou encore de vaccin par le biais de la transgénèse. Comment cette bactérie réussit-elle à faire ce grand écart ? L'article de Meril Massot, Bertrand Picard et Eric Denamur va au cœur de ce problème en discutant des conséquences de la plasticité du génome au travers de la diversité génotypique particulièrement importante de cette espèce bactérienne. *E coli* n'est pas un mais multiple, chaque humain héberge dans son microbiote plusieurs types de souches d'*E coli* dont les rôles respectifs ne sont pas tous élucidés, d'autant que ce rôle dépend fortement de la relation avec son hôte. Vous découvrirez également que les espèces commensales d'*E coli* que nous hébergeons évoluent au cours du temps en relation avec notre mode de vie. C'est également cette plasticité

^a Laboratoire de bactériologie du CHU Angers

4, rue Larrey – IBS
49033 - Angers

* Correspondance

MLJoly-Guillou@chu-angers.fr

qui permet à *E coli* de se montrer sous son plus mauvais jour. Cette bactérie peut devenir spontanément agressive, impliquée dans une pathologie aiguë voire mortelle lorsqu'une souche intègre un gène à l'origine de la production de shigatoxine la transformant en un pathogène strict responsable du syndrome hémolytique et urémique (SHU). Ce sujet est traité dans ce numéro sous deux aspects complémentaires, l'un microbiologique avec l'article de Patricia Mariani-Kurkdjian et Stéphane Bonacorsi et l'autre écrit par Nathalie van der Mee portant sur un document récent de prise en charge de cette pathologie et publié par la haute autorité de santé (HAS) en 2015. Enfin l'histoire ne serait pas complète si *E coli* n'avait pas participé à ce jeu dangereux que représente la multi résistance bactérienne. Depuis les années 2000, l'émergence puis la dissémination de *E coli* multirésistant (BMR) ou hautement résistant (BHRe) à travers le monde est un véritable problème de santé publique. Comment réagir face à ce problème, l'article de Delphine Hilliquin et al de ce dossier nous éclaire sur ce sujet et fait le tour des mesures d'hygiène permettant de limiter cette dissémination.

Escherichia coli présente donc des caractéristiques bien particulières qui font de cette espèce une bactérie modèle en particulier pour étudier le lien entre bactéries commensales et pathogènes mais également pour étudier les infinies

Sommaire thématique	
• <i>Escherichia coli</i> revisité, ami ou ennemi ?	p. 27
• Diversité des populations d' <i>Escherichia coli</i> et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal	p. 35
• Diagnostic des infections à <i>Escherichia coli</i> entérohémorragique	p. 45
• Conduite à tenir en cas de gastroentérites à <i>Escherichia coli</i> entérohémorragique (EHEC)	p. 53
• <i>Escherichia coli</i> sécréteur de bêta lactamase à spectre élargi, quelles mesures faut-il prendre pour maîtriser le risque ?	p. 61
• QCM	p. 68

possibilités qu'offrent la plasticité de son génome et ses capacités industrielles. *E coli* est sans aucun doute une bactérie qui n'a pas fini de surprendre le monde de la microbiologie.

La coordination de ce dossier a été assurée par le Dr Marie Laure Joly-Guillou, Professeur des Universités Praticien Hospitalier Responsable du Laboratoire de Bactériologie-Hygiène CHU Angers.

Escherichia coli revisité, ami ou ennemi ?

Marie Laure Joly Guillou^a

RÉSUMÉ

Escherichia coli est principalement un microorganisme de la flore commensale des mammifères. C'est aussi la bactérie la mieux connue des microbiologistes car elle a largement contribué à la connaissance de la génétique et de la physiologie bactérienne. Cette bactérie est capable d'intégrer facilement du matériel génétique étranger ce qui lui permet de se présenter comme une bactérie versatile capable du meilleur comme du pire. *E. coli* est une espèce commensale ou opportuniste, parfois strictement pathogène, généralement sensible aux antibiotiques mais également multirésistante voire totalement résistante aux antibactériens. Nos connaissances au sujet de cette espèce ont permis de l'utiliser à des fins biotechnologiques pour la fabrication de molécules utilisées en médecine ou dans l'industrie. Les découvertes plus récentes mettant le microbiote au centre de la physiologie des mammifères, laissent penser que *E. coli* a encore des choses à révéler.

Antibiotique - commensal - *Escherichia coli* - microbiote - pathogène - résistance.

1. Introduction

Découvert en 1855 par Theodor Escherich, *E. coli* est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et constituant majeur de la flore digestive des mammifères. Classiquement surnommé « colibacille » Son nom d'espèce « coli » signifie « issu du colon » qui représente son habitat naturel. La colonisation du tube digestif intervient quelques heures après la naissance. Cette bactérie est sans aucun doute la bactérie la plus connue et la plus étudiée au monde : Ainsi, *E. coli* a été le modèle choisi dans 11 prix Nobel. Le prix Nobel Jacques Monod (1965) qui élucida chez sa bactérie préférée la régulation de l'expression des gènes a eu cet aphorisme célèbre « *Tout ce qui est vrai pour le Colibacille est vrai pour l'éléphant* ». Sensée être inoffensive, elle est cependant à l'origine de pathologies sévères. Depuis l'avènement de la bactériologie moléculaire et du séquençage de génome, notre regard sur elle s'est profondément modifié [1]. *E. coli* s'est révélé une bactérie très versatile. Les frontières entre *E. coli* commensal et pathogène se réduisent comme le montrent aujourd'hui les études de population de *E. coli*, détaillé dans l'article de Meril Massot dans ce même numéro. On caractérise fréquemment les souches par leur typage antigénique à partir de l'antigène O somatique, H flagellaire et K capsulaire. La MLST (*multi locus sequence typing*) a

^a Laboratoire de bactériologie du CHU Angers

4, rue Larrey – IBS
49033 - Angers

* Correspondance

MLJoly-Guillou@chu-angers.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Escherichia coli revisited, friend or foe ?

Escherichia coli is primarily a microorganism of the commensal flora of the mammals. It is also the best known bacterium by microbiologists because of its contribution to the understanding of genetics and bacterial physiology. This bacterium is able to easily integrate some foreign genetic material which allows it to present itself as a versatile bacterium capable of the best and the worst. *E. coli* is a commensal or an opportunistic bacterium, sometimes strictly pathogen, usually «susceptible» to antibiotics but sometimes multidrug highly resistant even emerging to resistant to antibiotics. Our knowledge about this species and its characteristics allowed us to use it in biotechnology for the production of molecules used in medicine or industry. The most recent discoveries involving the microbiota as the centre of the mammalian physiology, suggest that *E. coli* still has things to prove.

Antibiotic - commensal - *Escherichia coli* - microbiota - pathogen - resistance.

permis d'affiner la classification de *E. coli* et leur typage. On considère à l'heure actuelle que cette espèce bactérienne comprend 8 groupes phylogénétiques principaux avec sept groupes A, B1, B2, C, D, E et F, à l'intérieur desquels des clones sont décrits comme le ST131 qui correspond à une souche disséminatrice productrice de bêta lactamase à spectre étendu (BLSE) (CTXM-15).

La plasticité de son génome lui a permis d'intégrer des gènes de virulence faisant de lui un pathogène stricte par production de toxine comme les *E. coli* impliqués dans les infections digestives, ou des gènes produisant une capsule, des sidérophores ou des pili comme les souches opportunistes rencontrées dans les infections hors système digestif. Cette plasticité lui permet également d'intégrer des gènes de résistance aux antibiotiques, faisant de certaines souches de *E. coli* des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRé) épidémiques et totalement résistantes. Sur un autre versant, *E. coli* qui constitue un élément minoritaire mais essentiel du microbiote digestif se voit impliqué autour de problématiques beaucoup plus générales telles que les pathologies inflammatoires du tube digestif, les pathologies de la nutrition ou même encore certaines pathologies psychiatriques. Une question fondamentale se pose aujourd'hui : quelle est la part de l'utilisation massive des antibiotiques, des produits chimiques ou encore des constituants de l'alimentation du XX^e et XXI^e siècle dans le fonctionnement ou le dysfonctionnement du microbiote et dans le rôle d'*Escherichia coli* dans toutes les pathologies rencontrées aujourd'hui autour de cette bactérie ?

Tableau I – Pathotypes d'*Escherichia coli* d'après Allocati et al (8)

Pathotype (acronymes)	Pathologie	Symptômes	Facteurs de virulence
<i>Escherichia coli</i> Enteriques (InPEC)			
<i>E coli</i> EnteroPathogène (EPEC)	Diarrhée de l'enfant	Diarrhée aqueuse et vomissements	Bfp; Intimin; LEE
<i>E coli</i> EnteroHémorragique (EHEC)	Colite hémorragique SHU	Diarrhée sanglante	Shiga-toxine; Intimin; Bfp
<i>E coli</i> EnteroToxinogène (ETEC)	Diarrhée du voyageur	Diarrhée aqueuse et vomissements	Toxine thermosensible; CFAs
<i>E coli</i> EnteroAggrégatif (EAEC)	Diarrhée de l'enfant	Diarrhée avec mucus et vomissements	AAF; cytotoxines
<i>E coli</i> Adhérent Diffus (DAEC)	Diarrhée aiguë de l'enfant	Diarrhée aqueuse UTI récurrente	Daa; AIDA
<i>E coli</i> EnteroInvasif (EIEC)	Shigella-like	Diarrhée aqueuse Dysenterie	Shiga-toxine; hémolysine; invasion cellulaire Ipa
<i>E coli</i> Adhérent-Invasif (AIEC)	Associé à la maladie de Crohn	Inflammation persistante intestinale	Fimbriae type 1 invasion cellulaire
<i>Escherichia coli</i> Extra Intestinal (ExPEC)			
<i>E coli</i> Uropathogènes (UPEC)	Infections basses et systémiques	Cystites pyélonéphrites	Fimbriae type 1 et P; AAFs; hémolysine
<i>E coli</i> des Méningites néonatales (NMEC)	Méningites néonatales	Méningites et sepsis aiguës	Fimbriae S; capsule K1
<i>E coli</i> pathogène Aviaire (APEC)	Source alimentaire		Fimbriae type 1 et P; capsule K1

Bfp: Bundle forming pili; LEE: Locus for enterocyte effacement; SHU: Syndrome hémolytique et urémique; CFA: colonization factor antigen; AAF: aggregative adherence fimbriae; Daa: diffuse adhesin; AIDA: adhesin involved in diffuse adherence; Ipa: Invasio plamid antigen.

2. *Escherichia coli*: le bon ou le méchant

Escherichia coli est un membre d'une très large communauté de microorganismes constituant le microbiote regroupant 100 000 milliards de bactéries dont principalement des anaérobies. *E coli* est minoritaire dans cet ensemble mais constitue une espèce majeure en raison de ses capacités métaboliques comme par exemple, consommer de l'oxygène, action qui va favoriser le maintien des espèces anaérobies. Le séquençage ADN du premier *E coli* commensal non pathogène en 1997 a montré un patrimoine génétique de 4,6 millions de paires de bases (PdB). Par la suite, les études de population ont montré une grande diversité des souches de *E coli*. La comparaison génomique avec les souches pathogènes a montré que ces dernières avaient un patrimoine génomique plus élevé (plus de 5 millions de PdB) comparativement aux souches commensales non pathogènes avec la présence de séquences d'insertion (IS) qui témoignent de la plasticité du génome de ce genre bactérien [2]. Dans la flore digestive, différents *E coli* cohabitent et certains d'entre eux ont acquis des gènes leur donnant un avantage sélectif qui peut favoriser leur émergence en certaines circonstances en particulier lorsque la bactérie se retrouve en dehors de sa niche écologique que constitue la flore digestive (*E coli* uropathogène et infection urinaire, *E coli* capsulé K1 et infections néonatales par exemple). Ces *E coli* sont des opportunistes. Un certain nombre de ces *Escherichia coli* appelés ExPEC pour « extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* » sont responsables de pathologies extra intestinales [3, 4].

Ainsi par exemple :

• L'infection urinaire de la jeune femme

E coli UPEC (*E coli* pathogène urinaire) peut posséder un potentiel pathogène qu'il exprime dans certaines

circonstances (pathogène opportuniste) par pénétration par voie urétrale ascendante (contiguïté) dans l'arbre urinaire, à l'origine de cystite (infection limitée à la vessie, sans fièvre) et de pyélonéphrite (infection du rein avec fièvre et bactériémie). La pénétration de *E coli* dans l'arbre urinaire est favorisée chez la femme par un urètre court. Leur persistance est favorisée par (1) la présence de pili ou fimbriae (adhésine) à la surface des bactéries pour lesquels il existe des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires et (2) toute anomalie fonctionnelle de l'arbre urinaire (stase, obstacle, reflux...)

E. coli est responsable de 90 % des infections urinaires spontanées en pratique de ville et 60 % des infections urinaires nosocomiales (5).

• L'infection néonatale à *E coli* de type K1

E coli peut posséder un potentiel de pathogène opportuniste à la suite du portage vaginale de la mère. *E coli* se transmet au nouveau-né lors de l'accouchement par voie basse. Il colonise les muqueuses oropharyngées et digestive de l'enfant. À partir de 10⁸ CFU/g de selles un phénomène de translocation peut intervenir et déclencher un sepsis. Ce cheminement est favorisé par (1) le facteur de virulence capsulaire K1 exprimé par la bactérie qui permet l'inhibition de la phagocytose et (2) l'absence de reconnaissance par un système immunitaire immature.

E coli K1 est la deuxième bactérie responsable du sepsis du nouveau-né après le streptocoque du groupe B et a une mortalité de 33 % [6, 7].

Les *E coli* responsables des gastro entérites aiguës doivent leur action à des gènes qui produisent une toxine ou des facteurs de virulence qui font d'eux des pathogènes strictes avec des doses infectantes basses (50 cfu peuvent suffire à déclencher des signes cliniques). Certains chercheurs se sont posés des questions sur la finalité des souches qui produisent des toxines et détruisent leur hôte. Certains de

ces chercheurs pensent que la bactérie productrice de toxine n'est pas au bon endroit et que dans le microbiote d'un autre mammifère, cette toxine a peut-être un rôle de protection qu'il ne peut pas avoir chez l'homme. En effet les ruminants ne possèdent pas le récepteur *stx* de la shiga toxine produite par *E coli*. Ces souches productrices de toxine sont parfaitement décrites et documentées [8] (**tableau I**); EIEC (Enteroinvasif *E coli*); EPEC (Enteropathogène *E coli*); EAEC (Enteroaggrégatif *E coli*); EHEC (Enterohémostagique *E coli*). Les EHEC sont les *E coli* qui donnent les tableaux les plus graves. Surnommée la bactérie des hamburgers, elle est responsable du syndrome hémolytique et urémique (SHU). Cette pathologie fait l'objet de deux articles dans ce numéro spécial.

3. *Escherichia coli*: de la souche sauvage à la bactérie hautement résistante émergente (BHRé)

L'évolution de la résistance aux antibiotiques chez *E coli* représente un modèle d'adaptation génétique à l'utilisation des antibiotiques. La souche sauvage d'*Escherichia coli* n'exprime aucune résistance naturelle vis-à-vis des β -lactamines. La bactériologie moléculaire a permis d'identifier dans son génome un gène présent à l'état naturel et potentiellement producteur de céphalosporinase (**figure 1**). Dès les années 60', *Escherichia coli* a intégré un plasmide lui conférant la résistance aux pénicillines via les gènes TEM et SHV produisant une pénicillinase (**figure 2**). Ces souches représentaient en 2014 entre 40 et 65 % des souches de *E coli* invasifs selon les pays et les données du réseau européen EARS-Net [9] (**tableau II**).

Figure 1 – *Escherichia coli* sauvage.



- 1 - amoxicilline- ticarcilline – piperacilline – mécilinam
- 2 - céfalotine – ticarcilline + acide clavulanique – piperacilline + tazobactam – céfamandole
- 3- céfotaxime –amoxicilline + acide clavulanique – ceftazidime – céfoxitine
- 4 - aztreonam – céfépime – moxalactam – imipénème

E coli présente dans son génome un gène capable de produire une céphalosporinase qui ne s'exprime pas dans le phénotype sauvage.

DR

Figure 2 – *Escherichia coli* producteur d'une pénicillinase acquise plasmidique.



- 1 - amoxicilline- ticarcilline – céfalotine – céfoxitine
- 2 - céfataxime – amoxicilline + acide clavulanique – ceftazidime – imipénème
- 3 - gentamicine –amikacine – fosfomycine T-colistine
- 4 - Ac nalidixique – ciprofloxacine – furanes – bactrim®

DR

Tableau II – Surveillance 2014 de la résistance aux antibiotiques chez les souches invasives d'*E coli* du réseau Européen EARS-Net [9]

Pays	% RI aminoP	% RI C3G	% RI CarbaP	% RI FQ	% RI aminoG
France	59.1	10.9	0	20.9	8.7
Norvège	41.8	6.2	0	11.8	6.3
Pays Bas	49.7	6.1	0	14.4	6.8
Suède	-	6.1	0	12.1	8.5
Danemark	49.9	7.8	0	15.5	7.5
Grande Bretagne	62.8	10.7	0.1	17.2	9.6
Allemagne	53.4	10.9	0.1	21.3	7.2
Espagne	65.6	12.5	0.2	34.5	15.6
Grèce	55.9	21.3	1.4	32.9	17.6
Italie	65.4	29.7	0.3	45.3	22.3

aminoP: Aminopénicillines; C3G: céphalosporines de 3^e génération; CarbaP: Carbapénèmes; FQ: Fluoroquinolones; aminoG: Aminoglycosides; RI: souches résistantes et intermédiaires selon les critères de l'EUCAST.

Figure 3 – *Escherichia coli* de phénotype TRI.



- 1 - amoxicilline- ticarcilline – céfotaxime – céfoxitine
- 2 - céfotaxime – amoxicilline + acide clavulanique – ceftazidime imipénème
- 3 - gentamicine – amikacine – fosfomycine T-colistine
- 4 - Ac nalidixique – ciprofloxacine – furanes – bactrim®

TRI (TEM Resistant Inhibitor): producteur d'une pénicillinase résistante à l'acide clavulanique

Figure 4 – *Escherichia coli* de phénotype BLSE.



- 1 - amoxicilline- ticarcilline – pipéracilline – mécilinam
- 2 - céfotaxime – ticarcilline + acide clavulanique – pipéracilline + tazobactam – céfamandole
- 3 - céfotaxime – amoxicilline + acide clavulanique – ceftazidime – céfoxitine
- 4 - aztreonam – céfépime – moxalactam – imipénème

BLSE: producteur d'une Beta-Lactamase à Spectre Etendu (caractéristique* par ses images de synergie entre les C3G et l'acide clavulanique).

Figure 5 – *Escherichia coli* de phénotype NDM.



- 1 - piperacilline-tazobactam – pipéracilline – amoxicilline céfépime-
- 2 - céfotaxime – céfamandole - ceftazidime amoxicilline + acide clavulanique
- 3 - ticarcilline – imipénème - céfotaxime
- 4 - ceftazidime - ertapénème - céfuroxime – céfoxitine

NDM (New Delhi Metallo-beta-lactamase): producteur d'une carbapénémase

Figure 6 – *Escherichia coli* de phénotype OXA-48.



- 1 - piperacilline-tazobactam – pipéracilline – amoxicilline céfépime-
- 2 - céfotaxime – céfamandole - ceftazidime amoxicilline + acide clavulanique
- 3 - ticarcilline – imipénème - céfotaxime
- 4 - ceftazidime - ertapénème - céfuroxime – céfoxitine

oxacillinase: producteur d'une carbapénémase

Tableau III – Distribution géographique des carbapénémases d'après Peirano et al, [14]

Carbapenemase (no.)	Total: country (no.)	ST131: country (no.)†
NDM (44)		
NDM-1 (39)	India (25), Vietnam (10), Serbia (1), Philippines (1), Thailand (1), China (1)	Philippines (1), India (1), Thailand (1)
NDM-4 (2)	India (2)	None
NDM-5 (n2)	Saudi Arabia (1), Kuwait (1)	None
NDM-6 (n1)	India (1)	None
KPC (38)		
KPC-2 (32)	Argentina (1), Brazil (2), Colombia (9), China (5), Ecuador (2), Italy (1), Jordan (1), Panama (1), Puerto Rico (5), USA (2), Vietnam (3)	Argentina (1), Colombia (5), China (4), Ecuador (1), Italy (1), Panama (1), Puerto Rico (4), USA (2), Vietnam (2)
KPC-3 (6)	Puerto Rico (1), Israel (1), USA (4)	USA (3)
OXA-48-like (30)		
OXA-48 (28)	Egypt (1), Jordan (1), Lebanon, (3), Morocco (2), Turkey (18), Vietnam (3), UAE (1)	Jordan (1), Morocco (1), Turkey (10), UAE(1)
OXA-163 (1)	Argentina (1)	None
OXA-244 (1)	Tunisia (1)	None
IMP (2)		
IMP-1 (1)	India (1)	None
IMP-14 (1)	Thailand (1)	Thailand (1)
VIM-1 (2)	Italy (1), Greece (1)	None
Total	116	41

* NDM, New Delhi metallo-β-lactamase-1; KPC, *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; USA, United States of America; OXA, oxacillinase; UAE, United Arab Emirates; IMP, imipenemase; VIM, Verona integron-encoded metallo-Mathematical Pi -lactamase.

PCR-based screening of *E. coli* ST131 may infrequently identify isolates that belong to the 131 Clonal Complex as ST131 and rarely misidentifies non-ST131 *E. coli* as ST131.

L'utilisation majeure de l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique destiné à contrer cette pénicillinase a abouti à l'émergence de souches résistantes à l'acide clavulanique dites souches TRI (« *TEM Resistant Inhibitor* »), favorisant ainsi l'usage des céphalosporines de troisième génération (C3G) en milieu hospitalier (figure 3). En 1985, l'émergence des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G par production d'une pénicillinase active sur les C3G ou bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), a provoqué des épidémies dans les services de soins intensifs. Ces épidémies concernaient *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter*. Avec soulagement, on constatait que les plasmides porteurs de ces gènes qui se sont rapidement diversifiés, ne s'implantaient pas durablement chez *E. coli*. Malheureusement, en 1990, un plasmide porteur d'un gène codant pour une BLSE (CTXM-15) issu de *Kluyvera*, entérobactérie environnementale, s'est installé durablement chez *E. coli*. Nous avons assisté alors de 1990 à 2000 à la dissémination mondiale de ce profil particulier (figure 4). À la différence des épidémies observées avec *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter*, cette souche n'avait pas seulement une diffusion hospitalière mais également communautaire, interpellant les épidémiologistes sur le rôle parallèle de l'usage des antibiotiques en médecine humaine, vétérinaire et en agroalimentaire [8, 10, 11]. Les souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération représentaient en 2014 entre 6 % et 30 % des souches invasives selon les pays et selon le réseau européen EARS-net, (tableau II). Dès le début de ces épidémies, l'usage des carbapénèmes s'est intensifié et la pression de sélection a atteint un palier supplémentaire. L'émergence des carbapénémases a été l'étape suivante. Le premier épisode français impliquant une carbapénémase a été signalé en 2004 [12, 13]. Tout d'abord identifiés chez *Klebsiella pneumoniae* comme cela avait déjà été le cas avec les BLSE, les gènes sont aujourd'hui retrouvés chez *E. coli*. Trois carbapénémases sont principalement impliquées : KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapénémase, bêta-lactamase de classe A) identifiée pour la première fois en 1996 aux États Unis ; OXA-48 (oxacillinase, bêta-lactamase de classe D) identifiée pour la première fois en 2003 en Turquie, et NDM (New Delhi métallobêta-lactamase de classe B) identifiée en 2008 pour la première fois à New Delhi. NDM et OXA-48 sont les deux carbapénémases les plus retrouvées chez *E. coli* à travers le monde avec des distributions géographiques propres [14, 15, 16] ; (tableau III ; figures 5, 6). Cependant si les souches d'*E. coli* produisant une KPC sont aujourd'hui de prévalence réduite par rapport aux autres, elles se distribuent à travers le monde entier, associées à un séquence-type particulier le ST-131 déjà à l'origine de la dissémination des CTXM-15 dans les années 2000. Cette observation inquiète certains épidémiologistes qui craignent dans les années à venir un phénomène épidémique identique à celui que l'on connaît avec *E. coli* producteur de CTXM-15 [14]. Selon les données du réseau EARS-Net de 2014, les souches invasives ne représentent pour l'instant qu'une faible prévalence et sont principalement retrouvées en dépistage.

La résistance aux fluoroquinolones est variable également selon les pays européens et se situe entre 12 % (Norvège ou Suède) et 45 % (Italie). La France se situe à un niveau

moyen avec 21 % de souches résistantes aux fluoroquinolones proche de l'Allemagne ou de la Grande Bretagne (tableau II). Enfin, la publication récente d'une souche de *E. coli* hébergeant un plasmide porteur d'un gène de résistance à la colistine *mcr* associé au gène *bla_{CTXM}* complète le tableau et pourrait laisser prévoir une dissémination rapide de la résistance à la colimycine [17].

4. *E. coli* au cœur du microbiote et son rôle dans l'équilibre physiologique

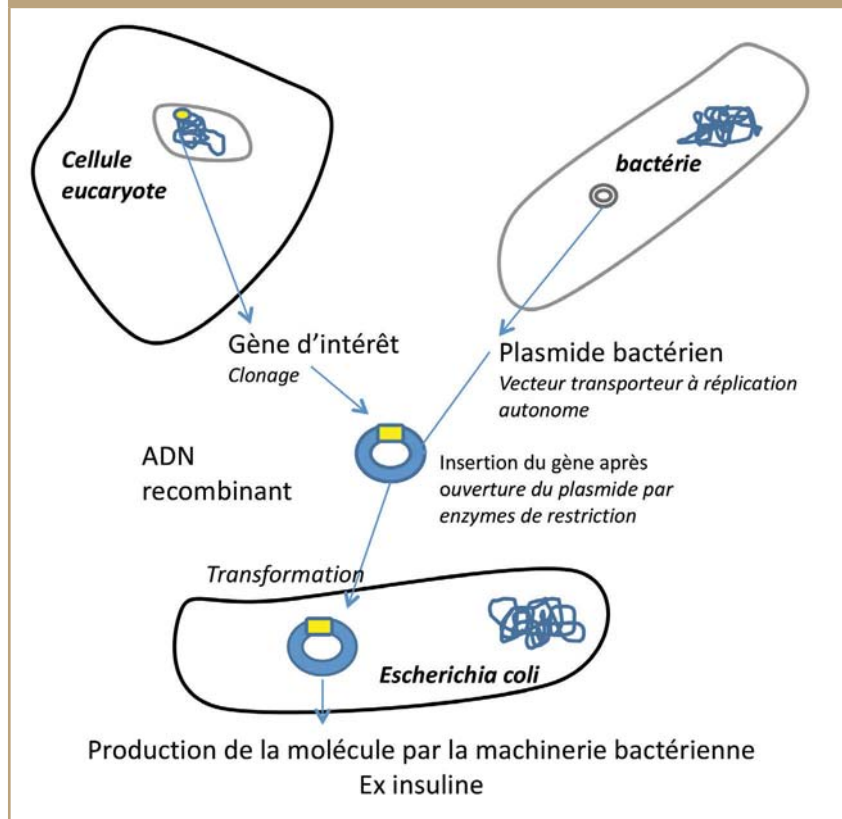
4.1. *E. coli* et maladies inflammatoires intestinales

La maladie de Crohn (MC) est une pathologie inflammatoire chronique de l'intestin. Une des hypothèses étiologiques la plus communément adoptée est que la MC serait la conséquence d'une réponse immunitaire anormale dirigée contre un agent infectieux survenant chez un malade génétiquement prédisposé. Parmi les agents infectieux incriminés, plusieurs arguments épidémiologiques, cliniques et expérimentaux sont en faveur d'un rôle possible de *Escherichia coli*. De plus en plus on identifie également la composition du microbiote comme élément majeur de cette pathologie. En effet certaines souches de *E. coli* pourraient être impliquées car elles produisent une enzyme de type mucinase qui dégrade le mucus intestinal et favorise la pénétration des bactéries et leur contact au niveau des cellules intestinales provoquant l'expression des cytokines inflammatoires. Le gène à l'origine de la production de mucinase a été identifié dans certaines souches d'*E. coli* parmi lesquelles des souches AIEC (*Adherent Invasive E. coli*) et également des souches UPEC (uropathogène *E. coli*) et a été nommé *Vat-AEIC* [18, 19].

4.2. *E. coli* et son rôle dans l'oncogénèse

Le microbiote intestinal entretient une relation forte avec son hôte et divers travaux ont mis en évidence la modification de ce microbiote chez les patients atteints de cancer colorectal. Certaines souches de *E. coli* produisent des toxines qui font partie d'une nouvelle famille, les cyclomodulines. Parmi elles la colibactine induit des cassures double-brin de l'ADN des cellules eucaryotes de l'hôte et pourrait jouer un rôle dans l'oncogénèse. D'autres comme la protéine CIF (*Cycle Inhibiting Factor*) bloqueraient la dégradation de protéines clés impliquées dans diverses voies de signalisation cellulaire comme la réponse inflammatoire, la différenciation cellulaire. Dans une étude de Risch en 2014, 86 % des *E. coli* isolés de patients atteints de cancer du côlon ou de diverticuloses produisant une cyclomoduline appartenaient au phylogroupe B2 et la majorité possédait un îlot génomique *pk*s codant des synthases polycétides et des peptides non ribosomiaux à l'origine de la production de colibactine et /ou de facteur *cnf* (« *cytotoxin necrotizing factor* »). De façon similaire à ce qui se passe dans la maladie de Crohn, ces *E. coli* étaient capables d'induire l'expression d'un antigène carcino embryonnaire (CEACAM6 ou « *Carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 6* ») dans les cellules T4 épithéliales intestinales. L'îlot *pk*s est plus

Figure 7 – Production de molécules par ADN recombinant dans le modèle *E coli*.



fréquemment associé aux souches UPEC, et aux souches issues de biopsies de tumeurs coliques comparé à des souches commensales ou issues de diverticuloses ou de maladie de Crohn [20, 21].

4.3. *E coli* et les pathologies de la nutrition

Les troubles du comportement alimentaire comme l'anorexie mentale, la boulimie ou l'hyperphagie touche environ 5 à 10 % de la population générale. Une protéine produite par certaines bactéries commensales du tube digestif et en particulier certains *E coli* a été mise en cause dans l'origine de ces troubles. Cette protéine appelée ClpB (*Caseinolytic protease B*) est le sosie de l'hormone de la satiété la mélanotropine. En présence de ClpB, l'organisme fabrique des anticorps dirigés contre cette protéine mais qui vont également aller se fixer à l'hormone de satiété du fait de son homologie de structure. Dans ce cas la sensation de satiété est atteinte et oriente vers l'anorexie ou n'est pas atteinte et oriente vers la boulimie. Dans une étude réalisée chez 60 patients, les taux plasmatiques d'anticorps dirigés contre la mélanotropine étaient plus élevés chez les patients présentant des troubles du comportement alimentaire. La réponse immunologique semble déterminer le type de trouble du comportement alimentaire comme l'anorexie ou la boulimie [22, 23].

4.4. *E coli*, microbiote et cerveau

Un certain nombre d'auteurs s'intéressent aujourd'hui à la communication entre le microbiote et le cerveau et montrent l'importance du rôle du microbiote dans

l'équilibre des fonctions physiologique de l'organisme. L'altération de l'équilibre micro-biotique qui modifie cette communication a été impliquée dans les pathologies liées au stress comme la dépression, l'anxiété le syndrome du côlon irritable ou encore dans les pathologies du neuro développement comme l'autisme. Lors d'une épidémie à *E coli* O104 : H4 incluant des syndromes hémolytiques et urémiques en 2014 en Allemagne, les auteurs ont mis en évidence l'existence de symptômes psychiatriques associés à cette pathologie comme des hallucinations, une désorientation ou encore des crises d'angoisse [24]. Le rôle de chacune des bactéries et en particulier d'*Escherichia coli* dans ce processus est loin d'être connu et de nombreux travaux seront encore nécessaires pour en comprendre les mécanismes. Ces travaux s'orientent aujourd'hui vers la neurologie, l'immunologie et les voies métaboliques avec l'espoir qu'ils amènent des avancées notables en thérapeutique sur ce type de pathologie [25, 26].

5. *E coli* le robot du XXI^e siècle et sa contribution à la médecine et à l'industrie.

E coli peut être utilisé comme une miro-usine pour produire à grande échelle = des produits utiles à la médecine, la pharmacie ou l'industrie. Pour ce faire les chercheurs ont établi les étapes nécessaires à cette production par la technique de l'ADN recombinant (figure 7) :

- 1 - Disposer de l'ADN codant pour le produit considéré
- 2 - Introduire cet ADN dans une espèce bactérienne : *Escherichia coli* choisi pour ses capacités de recombinaison génétique grâce à sa plasticité génomique et son fitness
- 3 - Laisser la machinerie de la bactérie faire fonctionner son usine
- 4 - Extraire la molécule fabriquée par *E coli*.

C'est ainsi que *E. coli* produit industriellement, dans des conditions hautement sécurisées, l'hormone hypophysaire de croissance (STH ou hormone somatotrope), sans les risques de contamination virale comme ceux rencontrés lors de l'utilisation d'hypophyse humaine « naturelle ». C'est également ainsi qu'est obtenu le ranibizumab (lucentis®) anticorps monoclonal susceptible de se lier et d'inhiber un facteur de croissance (VEGF-A) impliqué dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge (1 million de malades en France) [27]. La liste des molécules de synthèse produites par recombinaison génétique dans un modèle d'*E coli* s'allonge : L'insuline, les facteurs de coagulation nécessaires aux hémophiles, l'interféron, l'interleukin 2, l'erythropoïétine, les facteurs anti hémophiliques, le taxol ou encore le certolizumab

utilisé dans la maladie de Crohn, le cortisol sont également produits sur ce modèle [28-30].

La recherche sur les biocarburants a suscité beaucoup d'intérêt et des investissements ces dernières années. À cette fin, la production microbienne de combustibles dérivés d'acides gras à partir de matières premières durables est en train de devenir une option viable avec les progrès rapides de l'industrie et du milieu universitaire. La manipulation de la voie de biosynthèse des acides gras dans *Escherichia coli* a été largement étudiée. Cependant plusieurs approches sont encore nécessaires pour la production économique à grande échelle de biocarburants dérivés des acides gras. [31, 32]. À côté des biocarburants, *E. coli* est également utilisé dans l'industrie chimique pour la fabrication de phénol, d'éthanol ou encore de propane.

6. Conclusion

Ce qui étonne aujourd'hui en observant *Escherichia coli*, c'est son extrême diversité qu'il doit à l'étonnante plasticité de son génome. Diversité dans sa phylogénie, dans ses caractères de virulence et dans les pathologies dans lesquelles il est impliqué, dans les mécanismes de résistance vis-à-vis des antibiotiques, ou encore dans sa capacité à servir de micro-usine au service de la médecine, de la pharmacie ou de l'industrie. Cette bactérie mérite largement le titre de « star des bactéries ». Certaines faces cachées restent à sûrement à découvrir pour nous surprendre encore dans l'avenir.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Vila J, Sáez-López E, Johnson JR et al. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. FEMS Microbiol Rev 2016 mars 8:1-25.
- [2] FAQ Program. *E. coli* good, bad deadly. A report from the American Academy of Microbiology. The American Society for Microbiology (ASM), 2011, Washington DC; <http://www.momahobart.net.au/wp-content/uploads/2016/02/Ecoli-FAQ-report.pdf>
- [3] Manges AR. *Escherichia coli* and urinary tract infections: the role of poultry-meat. Clin Microbiol Infect 2016 Feb; 22(2):122-9.
- [4] Köhler CD, Dobrindt U. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? Int J Med Microbiol 2011 Dec; 301(8):642-7.
- [5] Rossignol L, Vaux S, Maugat S et al. Incidence of urinary tract infections and antibiotic resistance in the outpatient setting: a cross-sectional study. Infection 2016 May 7, e-pub.
- [6] Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and *E. coli* disease continues. Pediatrics 2011 May; 127(5):817-26.
- [7] Basmaci R, Bonacorsi S, Bidet P et al. *Escherichia Coli* Meningitis Features in 325 Children From 2001 to 2013 in France. Clin Infect Dis 2015 Sep 1; 61(5):779-86.
- [8] Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF et al. *Escherichia coli* in Europe: an overview. Int J Environ Res Public Health 2013 Nov 25; 10(12):6235-54.
- [9] EARS-net. Antimicrobial resistance surveillance in Europe, 2014. Annual report of the european antimicrobial resistance surveillance: www.ecdc.europa.eu
- [10] Guillot JF. [Appearance and evolution of bacterial resistance to antibiotics]. Ann Rech Vet 1989; 20(1):3-15.
- [11] Guerra B, Fischer J, Helmuth R. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. Vet Microbiol 2014; 171(3-4):290-7.
- [12] Grundmann H, Livermore DM, Giske CG et al. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. Euro Surveill 2010; 15(46):pii19711.
- [13] Vaux S, Carbonne A, Thiolet JM et al. Emergence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in France, 2004 to 2011. Euro Surveill 2011 Jun 2; 16(22):pii19880.
- [14] Peirano G, Bradford PA, Kazmierczak KM et al. Global incidence of carbapenemase-producing *Escherichia coli* ST131. Emerg Infect Dis 2014 Nov; 20(11):1928-31.
- [15] Bushnell G, Mitrani-Gold F, Mundy LM. Emergence of New Delhi metallo- β -lactamase type 1-producing enterobacteriaceae and non-enterobacteriaceae: global case detection and bacterial surveillance. Int J Infect Dis 2013 May; 17(5):e325-33.
- [16] Djahmi N, Donyach-Remy C, Pantel A et al. Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. Biomed Res Int 2014; 2014: 305784.
- [17] McGann P, Snesrud E, Maybank R et al. *Escherichia coli* Harboring mcr-1 and blaCTX-M on a Novel IncF Plasmid: First report of mcr-1 in the USA. Antimicrob Agents Chemother 2016 May 26. pii: AAC.01103-16.
- [18] Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive *Escherichia coli*: a putative new *E. coli* pathotype associated with Crohn's disease. Int J Med Microbiol 2002 Sep; 292(3-4):185-93.
- [19] Gibold L, Garenaux E, Dalmasso G et al. The Vat-AIEC protease promotes crossing of the intestinal mucus layer by Crohn's, disease-associated *Escherichia coli*. Cell Microbiol 2016 May; 18(5):617-31.
- [20] Raisch J, Dalmasso G, Bonnet R et al. [How some commensal bacteria would exacerbate colorectal carcinogenesis?]. Med Sci (Paris) 2016 Feb; 32(2):175-82.
- [21] Raisch J, Buc E, Bonnet M et al. Colon cancer-associated B2 *Escherichia coli* colonize gut mucosa and promote cell proliferation. World J Gastroenterol 2014 Jun 7; 20(21):6560-72.
- [22] Breton J, Legrand R, Akkermann K et al. Elevated plasma concentrations of bacterial ClpB protein in patients with eating disorders. Int J Eat Disord 2016 Apr 1. epub.
- [23] Ténoune N, Chan P, Breton J et al. Bacterial ClpB heat-shock protein, an antigen-mimetic of the anorexigenic peptide α -MSH, at the origin of eating disorders. Transl Psychiatry 2014 Oct 7; 4:e458.
- [24] Kleimann A, Toto S, Eberlein CK et al. Psychiatric symptoms in patients with Shiga toxin-producing *E. coli* O104: H4 induced haemolytic-uraemic syndrome. PLoS One 2014 Jul 9; 9(7):e101839.
- [25] Grenham S, Clarke G, Cryan JF et al. Brain-gut-microbe communication in health and disease. Front Physiol 2011 Dec 7; 2:94.
- [26] Borre YE, Moloney RD, Clarke G et al. The impact of microbiota on brain and behavior: mechanisms & therapeutic potential. Adv Exp Med Biol 2014; 817:373-403.
- [27] Singh RP, Kaiser PK. Role of ranibizumab in management of macular degeneration. Indian J Ophthalmol 2007 Nov-Dec; 55(6):421-5.
- [28] Huang CJ, Lin H, Yang X. Industrial production of recombinant therapeutics in *Escherichia coli* and its recent advancements. J Ind Microbiol Biotechnol 2012 Mar; 39(3):383-99.
- [29] Kamionka M. Engineering of therapeutic proteins production in *Escherichia coli*. Curr Pharm Biotechnol 2011 Feb 1; 12(2):268-74.
- [30] Schiffer L, Anderko S, Hobler A et al. A recombinant CYP11B1 dependent *Escherichia coli* biocatalyst for selective cortisol production and optimization towards a preparative scale. Microb Cell Fact 2015 Feb; 25:14:25.
- [31] Handke P, Lynch SA, Gill RT. Application and engineering of fatty acid biosynthesis in *Escherichia coli* for advanced fuels and chemicals. Metab Eng 2011 Jan; 13(1):28-37.
- [32] Howard TP, Middelhaufe S, Moore K et al. Synthesis of customized petroleum-replica fuel molecules by targeted modification of free fatty acid pools in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci U S A 2013 May 7; 110(19):7636-41.

Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal

Ménil Massot^{a,b}, Bertrand Picard^{a,c,d}, Erick Denamur^{a,b,e}

RÉSUMÉ

Escherichia coli est la bactérie aéro-anaérobie facultative commensale de l'intestin de l'Homme et des autres mammifères la plus abondante. Il s'agit également du premier agent responsable d'infections extra-intestinales. Depuis les années 2000, on la retrouve au premier rang des espèces clés impliquées dans l'émergence et la diffusion des résistances acquises aux antibiotiques, servant entre autre de vecteur aux gènes codant pour les β -lactamases à spectre étendu de type CTX-M. De par son spectre d'hôtes très large, *E. coli* est donc au centre d'un véritable enjeu de santé publique mondiale. Dès lors, il est important d'étudier la structure génétique de la population d'*E. coli* dans le tube digestif, fruit de pressions de sélection qui découlent à la fois de son environnement immédiat, et de celui de son hôte. L'espèce se décline en 7 groupes phylogénétiques principaux A, B1, B2, C, D, E et F. Les souches de ces groupes phylogénétiques ont des capacités de colonisation du tube digestif et de pathogénicités intestinales et extra-intestinales différentes. Le caractère particulièrement virulent des souches pathogènes du groupe B2 serait une conséquence secondaire de leur aptitude à coloniser de manière efficace le tube digestif d'un individu. Cette dualité entre commensalisme et pathogénèse opportuniste fait de *E. coli* un parfait marqueur pour surveiller l'émergence au sein des flores commensales de souches potentielles virulentes et résistantes aux antibiotiques.

β -lactamases à spectre étendu - commensal - *Escherichia coli* - groupes phylogénétiques - microbiote intestinal - pathogène opportuniste.

1. Où se rencontre la bactérie *Escherichia coli*?

Connue du grand public à travers les annonces dans la presse de rappels de steaks, légumes, ou autres lots de fromages contaminés, on oublie parfois que nous vivons

a INSERM, IAME, UMR1137, Paris, France

b Univ Paris Diderot, IAME, UMR1137, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

c APHP, Hôpitaux Universitaires Paris Seine Saint-Denis, Site Avicenne, Bobigny, France

d Univ Paris Nord, IAME, UMR1137, Sorbonne Paris Cité, Bobigny, France

e APHP, Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val-de-Seine, Site Bichat Claude-Bernard, Paris, France

* Correspondance

meril.massot@inserm.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

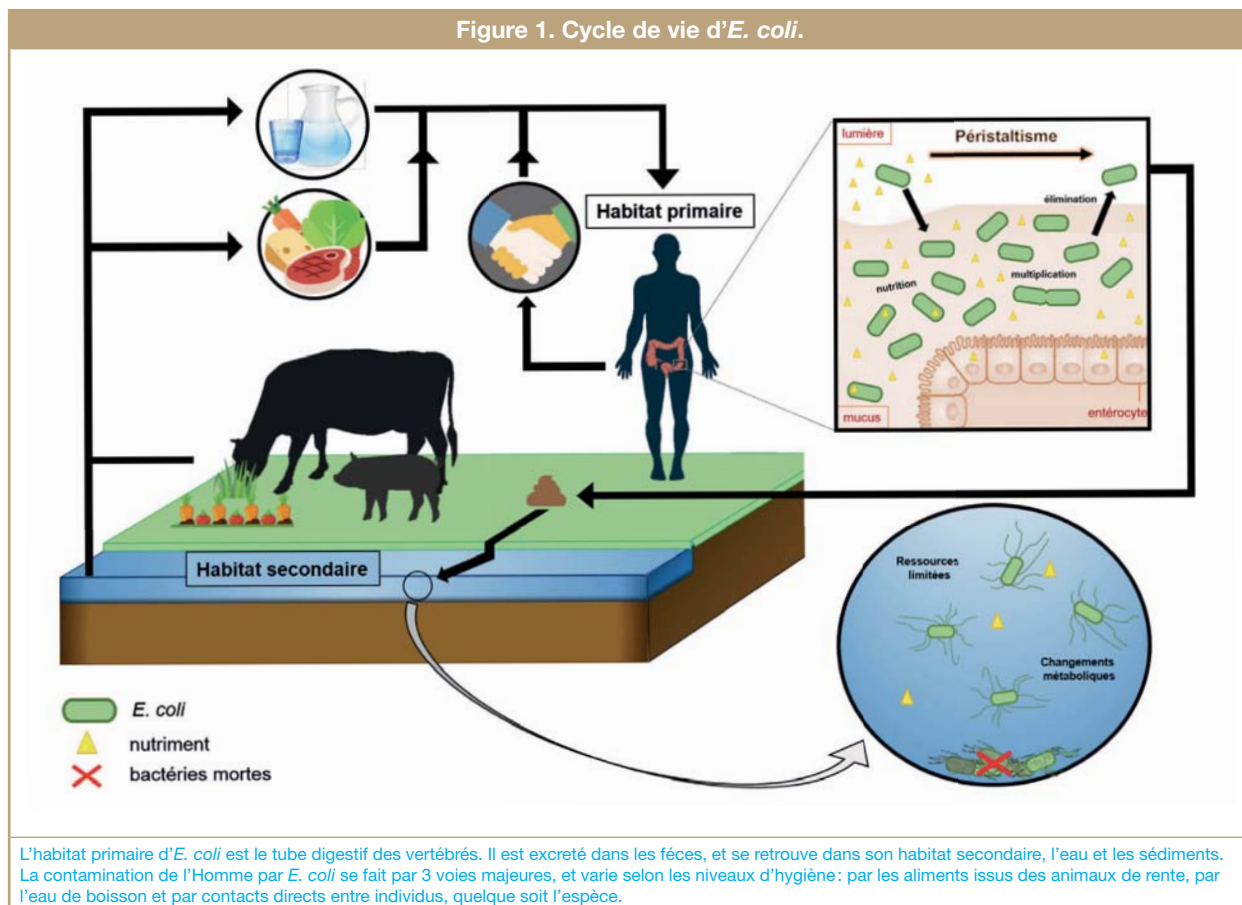
Diversity and variability in populations of *E. coli* over time within the gut microbiota

Escherichia coli is the most common commensal aerobic bacterium in the gut microbiota of human and others mammals. It can nevertheless cause a broad range of diseases from various diarrheal diseases to extra-intestinal diseases. Since 2000, it is one of the most abundant bacterium that participate to the emergence and diffusion of factors coding for resistance to antibiotics, for example, genes coding for extended spectrum β -lactamases, such as CTX-M. Because of its broad host spectrum and the severity of the diseases it causes, the fight against resistant pathogenic *E. coli* is a priority for the world health. It is therefore valuable to study the genetic structure of the gut *E. coli* populations, where drivers such as antibiotic treatments lead to the emergence and diffusion of resistance genes. The species is divided in seven main phylogenetic groups named A, B1, B2, C, D, E and F. The gut colonization efficiency and the ability to cause intestinal or extra-intestinal diseases vary among these groups. The virulence of the pathogenic strains of the phylogenetic group B2 could be a by-product of their great ability to colonize the gut. *E. coli* is a good marker to survey the emergence in the gut microbiota of resistant pathogens, because of its dualism between commensalism and pathogenicity.

Extended spectrum β -lactamases - commensal - *Escherichia coli* - phylogenetic groups gut microbiota - opportunistic pathogen.

au quotidien en bonne entente avec *E. coli*. D'où vient la part ambiguë de la relation que nous entretenons avec elle ? On retrouve *E. coli* partout dans notre environnement, plus particulièrement dans le tube digestif de l'Homme et des animaux à sang chaud. Quatre-vingt-dix pour cent des humains hébergent des *E. coli* dans leurs intestins [1, 2], contre 56 % des autres mammifères, 23 % des oiseaux et 10 % des reptiles [3]. Les populations de *E. coli* intestinales se comptent à des niveaux de l'ordre de 10^7 à 10^9 Unité Formant Colonie par gramme (UFC/g) de fèces ce qui en fait la bactérie aéro-anaérobie facultative majoritaire de notre tube digestif. Il s'agit de l'une des premières espèces à coloniser l'intestin encore stérile du nouveau-né à partir de la flore digestive de la mère si la naissance a lieu par les voies naturelles, ou de l'environnement si elle

Figure 1. Cycle de vie d'*E. coli*.



se fait par césarienne [1]. Sa colonisation du tube digestif dans les premières heures de vie d'un nourrisson est cruciale pour l'installation de la flore intestinale dite bénéfique, puisqu'en consommant l'oxygène dans le milieu intestinal, *E. coli* créerait un environnement pauvre en oxygène et donc favorable aux bactéries anaérobies [2]. Malgré cette domination sur le reste de la flore aérobie du tube digestif, les populations d'*E. coli* restent toutefois 100 à 10 000 fois moins nombreuses que la masse de bactéries anaérobies présentes dans le tube digestif [2]. *E. coli* cohabite avec d'autres espèces de micro-organismes, bactéries, majoritairement anaérobies, eucaryotes ou encore bactériophages (virus des bactéries), qu'on regroupe sous le terme de flore ou microbiote intestinal, et qui représentent un total de 10^{14} bactéries, et 10^{15} particules de bactériophages par gramme de matières fécales. *E. coli* est établie sur toute la longueur du tube digestif à partir du duodénum, avec un maximum de concentration au niveau du colon et du caecum [4]. Son métabolisme est adapté au mucus synthétisé par les cellules caliciformes de l'épithélium intestinal (figure 1) [2]. Au sein de sa niche écologique nutritionnelle, *E. coli* utilise principalement les sucres comme source de carbone, dont le gluconate [5]. Cette bactérie optimise sa croissance en alternant une respiration aérobie et micro-aérobie. Il en résulte une vitesse de croissance élevée, avec un temps de génération de l'ordre de 120 minutes *in vivo* [6]. Cela lui confère un avantage par rapport à la flore compétitrice. *E. coli* peut coopérer avec d'autres bactéries. Par exemple, elle peut bénéficier de la dégradation par des bactéries anaérobies

de polysaccharides du mucus ou des fibres alimentaires. On qualifie généralement la relation entre *E. coli* et son hôte de « commensale », c'est-à-dire que l'un des deux organismes bénéficie de cette interaction sans que l'autre n'en tire un avantage particulier. Dans le cas d'*E. coli*, elle profite de son hôte en détournant des nutriments issus de la digestion pour sa propre consommation. Elle est également protégée contre certains stress, et bénéficie d'un environnement stable. Le terme de mutualisme serait plus approprié que celui de commensalisme, dans la mesure où la présence de populations d'*E. coli* dans le tube digestif constitue un avantage certain pour l'individu. Ces bactéries agissent directement sur leur hôte, en stimulant le système immunitaire [7], et en modulant son appétit et satiété grâce à des protéines mimant des hormones agissant sur les circuits neuronaux impliqués dans la régulation de l'appétit [8]. Elles jouent également un rôle de barrière contre d'éventuels agents pathogènes, telles que les salmonelles ou les clostridies, en prévenant la colonisation du tube digestif, via l'occupation de sa niche écologique et la production de bactériocines [9].

Du fait de la dégradation du mucus qui tapisse l'épithélium intestinal et de son élimination par le péristaltisme, les bactéries se retrouvent dans la lumière du tube digestif de leur hôte, et sont éliminées avec les matières fécales dans l'environnement (figure 1) [2]. L'eau, et les sédiments constituent l'habitat secondaire d'*E. coli*. Les concentrations d'*E. coli* dans les sédiments sont hautement corrélées à celles des eaux qui les recouvrent, bien qu'en général, les

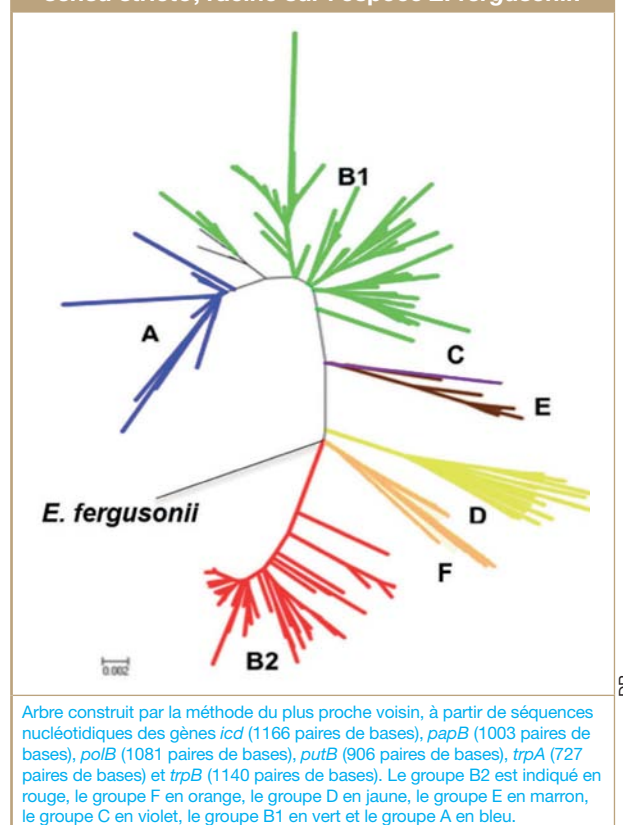
concentrations dans les sédiments soient 100 à 1 000 fois supérieures [10]. Le cycle de vie d'*E. coli* implique une transition phénotypique et métabolique entre l'habitat primaire et secondaire, car leurs conditions physico-chimiques, le microbiote environnemental, ainsi que les sources de nutriments qu'ils offrent diffèrent considérablement. La présence d'*E. coli* en quantité variable dans l'environnement résulte directement de sa capacité à survivre dans des conditions environnementales plus ou moins stressantes. Au cours du temps, une sélection s'opère. Elle est toutefois contrebalancée par l'arrivée permanente de bactéries en provenance de l'habitat primaire, ce qui permet de maintenir une population relativement stable dans l'environnement [11]. Cependant, toutes les souches d'*E. coli* retrouvées dans l'eau ne sont pas uniquement d'origine humaine ou animale, et il a été prouvé que certaines souches peuvent s'adapter au milieu extérieur, y survivre, voire y persister [12]. Le nombre total de bactéries constituant l'espèce *E. coli* a été estimé à environ 10^{20} individus, répartis sur tous les continents, qu'elles soient présentes dans le tube digestif d'un être vivant ou dans l'environnement [2].

2. Une structure de population clonale qui permet la distinction de 7 groupes phylogénétiques principaux

Comment réconcilier le fait de retrouver à divers endroits du monde des souches de *E. coli* identiques, ou présentant des associations spécifiques d'allèles, avec l'immense diversité génotypique, phénotypique et de niches écologiques spécifiques qui existe au sein d'un hôte donné ? Derrière cette question se cache celle de l'évolution de la structure génétique de l'espèce. Il est reconnu aujourd'hui que *E. coli* est une espèce clonale, c'est-à-dire qu'une population donnée est issue d'une seule cellule bactérienne par reproduction asexuée, et que l'hétérogénéité entre souches est le fruit des mutations ponctuelles sur le brin d'ADN. Dans le cas d'*E. coli*, ce mode de reproduction s'accompagne d'un taux de recombinaisons génétiques non négligeable, ce qui a conduit peu à peu certaines souches à diverger et à donner naissance à de nouvelles lignées de clones, à l'origine de la diversité génétique immense que l'on retrouve aujourd'hui [13]. Néanmoins, ces phénomènes de brassage génétique n'altèrent pas la topologie globale de la phylogénie de l'espèce. Il existe pour chaque souche un signal phylogénétique clair. Des différences génomiques importantes au sein de l'espèce ont ainsi été mises en évidence, d'abord par l'analyse des variants protéiques par la technique du « MultiLocus Enzyme Electrophoresis » (MLEE) [14], puis grâce à l'analyse de l'ADN, notamment par la technique du « MultiLocus Sequence Typing » [15]. Ces techniques ont permis de subdiviser l'espèce *E. coli* en 7 groupes phylogénétiques principaux dénommés A, B1, B2, C, D, E et F (figure 2) [16, 17]. Une PCR simple et rapide est désormais disponible pour identifier le groupe phylogénétique d'une souche [18]. Si les genres *Salmonella* et *Escherichia* divergent au temps de l'âge d'or des dinosaures, 120 à 160 millions d'années avant notre ère,

l'émergence d'*E. coli* suit l'apparition des mammifères et de leur alimentation lactée. L'ancêtre d'*E. coli* devient capable de métaboliser le lactose grâce aux gènes portés sur l'opéron lactose, et donc à utiliser les ressources présentes dans le tube digestif de cette nouvelle classe d'animaux amenée à connaître une explosion radiative majeure à l'âge tertiaire [19]. Les souches du groupe B2 ont été les premières à émerger dans l'évolution, il y a 23 à 30 millions d'années [20]. Le groupe D puis le groupe E auraient ensuite émergé. Enfin, l'ancêtre commun des groupes frères C, A et B1 serait apparu il y a 3 millions d'années (figure 2) [20, 21]. Cette histoire évolutive se retrouve dans l'occupation des mêmes niches écologiques pour les souches des groupes A et B1, et différentes de celles qu'occupent les souches des groupes B2 et D, ce qui témoigne de la grande plasticité du génome de cette espèce, lui permettant de s'adapter à de nombreuses conditions environnementales et métaboliques. Ces phylogroupes se déclinent eux-mêmes en sous-groupes, dont les plus étudiés pour leur pouvoir pathogène sont, parmi les 10 sous-groupes actuellement décrits dans le groupe B2, les « Sequence Types complex » I, VII, IX et X [17], en référence à la technique du MLST, et pour l'émergence de certaines résistances, le sous-groupe Clonal Group A (CGA) du groupe phylogénétique D [22]. En addition à ces groupes phylogénétiques, on décrit également cinq clades appartenant au genre *Escherichia*, dont le phénotype est très proche voire identique à celui des *E. coli* mais dont les caractères génotypiques les différencient des souches d'*E. coli sensu stricto* [23].

Figure 2. Arbre phylogénétique de l'espèce *E. coli sensu stricto*, raciné sur l'espèce *E. fergusonii*.



3. Les souches pathogènes intestinales et extra-intestinales

Le pouvoir pathogène d'*E. coli* fut découvert dès la fin du XIX^e siècle, peu de temps après l'isolement et la description de la bactérie par Théodore Escherich [24]. *E. coli* se distingue par une remarquable variété de pathotypes, responsables d'infections intestinales ou extra-intestinales. On classe les souches d'*E. coli* pathogènes intestinales sous la dénomination commune « Intestinal Pathogenic *E. coli* » (InPEC). Au sein des InPEC, on distingue des pathotypes, au nombre de 6, en fonction de l'expression de leur virulence : les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), *E. coli* entéropathogènes (EPEC), *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC), et *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC). Un 7^e pathovar serait responsable de la toxi-infection alimentaire collective de 2011 en Allemagne [16,25], qui a coûté la vie à plusieurs dizaines de personnes à la suite de consommation de graines germées, et présente des caractéristiques à la fois d'EHEC et d'EAEC. L'étape commune à tous ces pathotypes et préliminaire à l'expression de la virulence est l'adhésion aux entérocytes, ce qui leur permet de résister au péristaltisme intestinal et à l'élimination hors de l'hôte. Les mécanismes du pouvoir pathogène de ces différents pathotypes sont très divers et leur virulence est multifactorielle. Le tableau clinique est dominé par une diarrhée dont les caractéristiques symptomatologiques dépendent du pathotype, et qui constitue un moyen de dissémination vers de nouveaux hôtes.

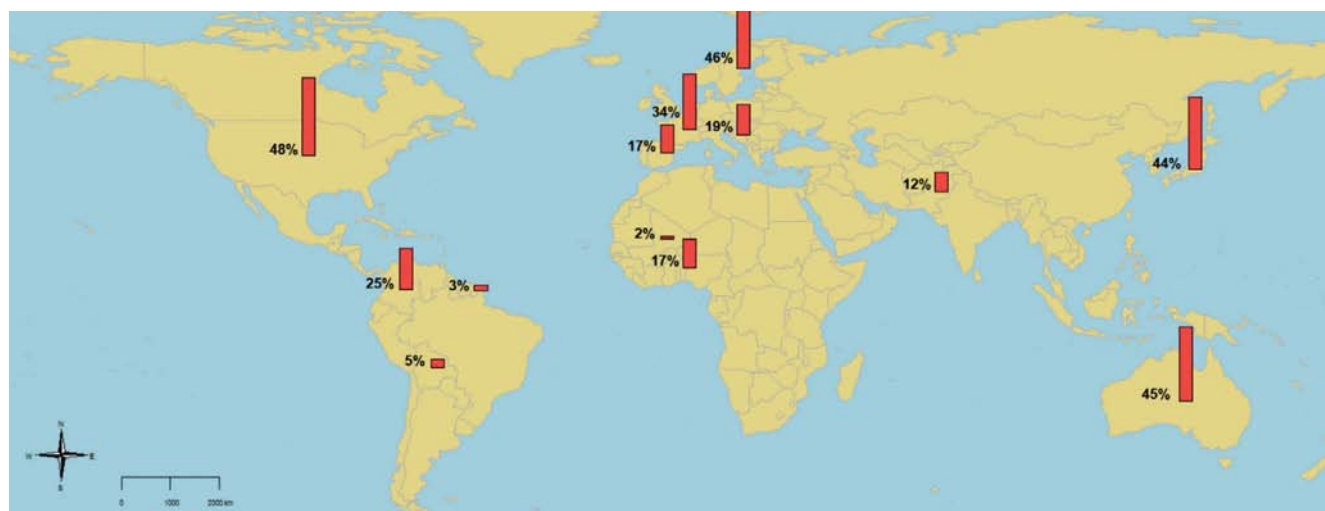
Les souches d'*E. coli* responsables d'infections extra-intestinales sont regroupées sous la dénomination « Extra-Intestinal Pathogenic *E. coli* » (ExPEC), et appartiennent pour la plupart aux groupes phylogénétiques B2 et D. On distingue deux pathotypes majoritaires : les *E. coli* uropathogènes (UPEC) et les *E. coli* responsables de méningites néonatales (NMEC). On isole également le colibacille dans

des infections localisées dans d'autres parties anatomiques du corps humain, comme des infections pulmonaires, ostéo-articulaires, des endocardites, des infections sur dispositifs intravasculaires ou sur matériel chirurgical. Des bactériémies peuvent compliquer ces infections et disséminer le colibacille vers d'autres sites, aggravant le pronostic. Il est intéressant de noter que ces souches ExPEC sont distinctes des InPEC, car elles ne provoquent pas d'infections intestinales, bien qu'elles soient capables de coloniser le tube digestif.

4. Une grande diversité des populations commensales d'*E. coli* pour une grande diversité d'hôtes

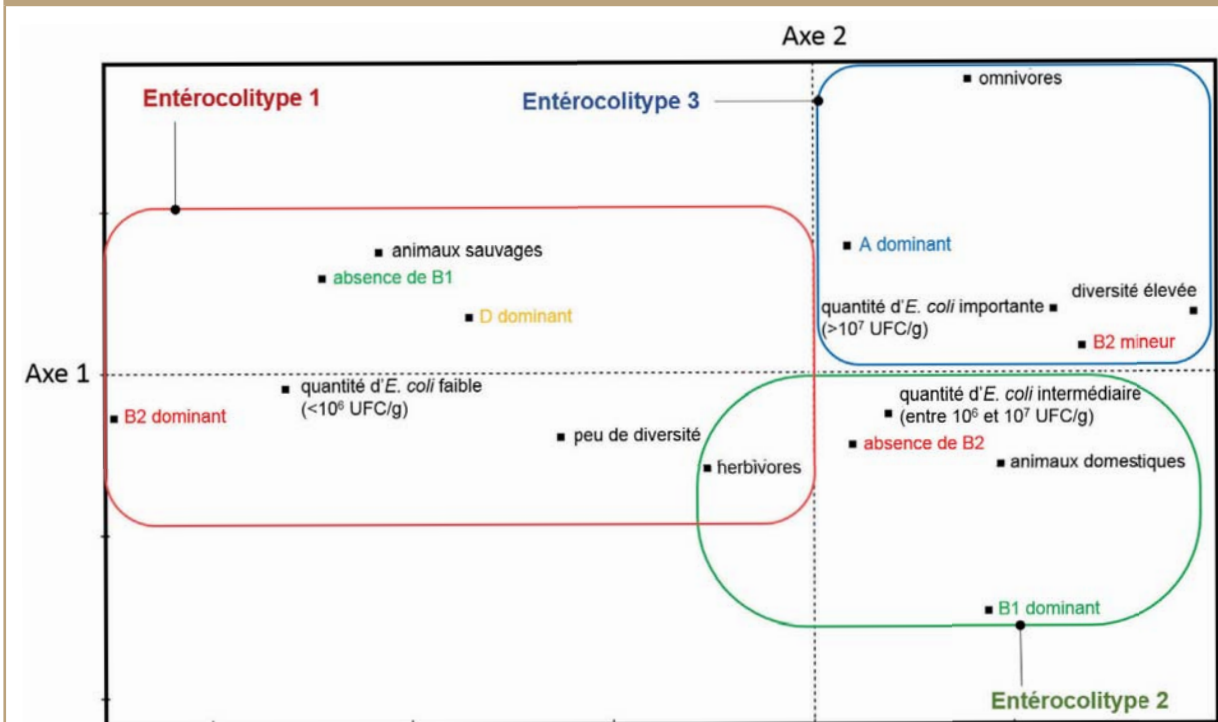
Il a été établi qu'à tout moment, un individu héberge au moins une souche d'*E. coli* dominante, c'est-à-dire qui représente plus de la moitié des souches d'*E. coli* isolées [26], avec d'autres souches présentes à des niveaux moindres. La diversité génétique des souches d'*E. coli* existant au sein de son hôte, soit le nombre de souches génétiquement différentes qu'on peut observer dans un échantillon de matière fécale, peut s'approcher par la prévalence des différents groupes clonaux au sein d'un échantillon. On distingue 3 catégories : le groupe phylogénétique dominant, dont la prévalence est supérieure à 50 %, le ou les groupes intermédiaires, dont la prévalence est comprise entre 10 % et 50 % et les groupes mineurs, dont la prévalence ne dépasse pas 10 % [27]. Les clones appartenant à ces deux derniers groupes sont considérés comme sous-dominants dans l'échantillon. Cette structure a été mise en évidence chez l'Homme [26], mais aussi chez des animaux, tels que le chien [26]. Le groupe phylogénétique dominant le plus fréquent chez l'Homme dans les pays industrialisés est principalement B2 (figure 3),

Figure 3. Répartition mondiale des souches d'*E. coli* du groupe phylogénétique B2 dans la flore commensale des populations humaines à partir d'une revue de la littérature.



Les prévalences des souches du groupe B2 dans chaque pays sont indiquées par les diagrammes en barre.

Figure 4. Analyse factorielle des correspondances représentant les différentes structures de population d'*E. coli* au sein du tube digestif, dénommées « entérocolotypes ».



Le premier axe oppose les caractéristiques des populations d'*E. coli* présentant les plus grandes disparités, ici entre des populations où le groupe B2 domine et d'autres où le groupe B2 est absent. Le deuxième axe oppose les populations d'*E. coli* où le groupe B1 domine et celles où le groupe A domine. Plus une modalité est proche d'une autre et plus elles sont associées. Cela permet de distinguer des structures de populations d'*E. coli* selon les caractéristiques de l'hôte. UFC/g: Unité Formant Colonie par gramme de matière fécale.

DR

suivi des groupes A, D et B1 (43 %, 24 %, 21 % et 12 %, respectivement) [2]. Quels sont les éléments favorisant la colonisation de notre tube digestif par un groupe phylogénétique donné ? De manière générale, on peut séparer les facteurs influençant la structure génétique des populations d'*E. coli* en 2 catégories : les caractéristiques de l'hôte et celles de l'environnement. En effet, les particularités de l'hôte, tels que l'espèce à laquelle il appartient, sa masse corporelle, l'anatomie et la physiologie de son tube digestif, les temps de rétention du bol alimentaire, et le régime alimentaire sont des prédicteurs fiables de la distribution des groupes phylogénétiques au sein du spectre d'hôtes. La relation étroite qui existe entre l'hôte et sa flore d'*E. coli* a permis de distinguer trois types de structures de populations majeures, ou « entérocolotypes » caractérisés par des associations de groupes phylogénétiques (figure 4) [28], à l'image des « entérotypes » décrits chez l'Homme sur des associations d'espèces et de genres bactériens du microbiote global [29]. Par exemple, l'environnement intestinal des herbivores semble favoriser les souches du groupe phylogénétique D. Cependant, l'état de domesticité d'un herbivore favorise l'établissement de souches du groupe phylogénétique B1 [28]. Du reste, il semblerait que le groupe phylogénétique du clone dominant influencerait lui aussi sur la structure de population. Avec une souche dominante appartenant au groupe phylogénétique B2, la probabilité d'observer d'autres groupes phylogénétiques dans la population sera faible, tandis qu'avec une souche

dominante A, on détectera d'autres groupes phylogénétiques mineurs (figure 4) [28]. Ces données supportent l'hypothèse que la virulence extra-intestinale associée aux souches du groupe B2 serait un coproduit du commensalisme [30]. Il a été montré que les îlots de pathogénicité, dans lesquels se regroupent les gènes de virulence extra-intestinaux, et qu'on retrouve associés au groupe phylogénétique B2, sont impliqués dans la colonisation intestinale [30]. Des souches possédant l'îlot *pks* coloniseraient de manière plus efficace le tube digestif que d'autres bactéries, en ralentissant le renouvellement de l'épithélium intestinal [28]. Un grand nombre de gènes de virulence extra-intestinaux exprimés par le groupe phylogénétique B2 auraient permis à ces souches d'être d'excellentes colonisatrices du tube digestif, empêchant l'établissement de souches d'autres groupes phylogénétiques ayant perdu ses caractères ancestraux [31].

Les facteurs environnementaux, tels que le climat, jouent également un rôle prépondérant sur la variabilité qui existe entre les structures génétiques d'*E. coli* de deux populations d'une même espèce hôte. En effet, un individu vivant en zone tropicale a tendance à abriter plus de souches d'*E. coli* génétiquement différentes qu'un autre vivant en zone tempérée. Le groupe phylogénétique dominant au sein de la flore d'une personne peut également changer suivant les conditions climatiques dans lesquelles il vit. Cela s'illustre par une étude qui a comparé les populations commensales d'*E. coli* de français expatriés en Guyane

Française depuis peu avec celles de personnes résidant en France métropolitaine et des Amérindiens guyanais. Il a été montré que les populations d'*E. coli* présents dans le microbiote des expatriés présentaient une diversité de souches intermédiaire entre ceux des deux autres populations. De plus, ces expatriés hébergeaient moins de souches du groupe phylogénétique B2 que les français restés en métropole (figure 3), et moins de souches du groupe A que les natifs amérindiens [32].

En résumé, la structure de répartition des groupes phylogénétiques d'*E. coli* au sein de son hôte est le jeu de forces complexes et multifactorielles. Chaque combinaison de ces facteurs conduit à une structure spécifique et propre à chaque individu. La virulence d'une souche hors du tube digestif serait une conséquence indirecte de la conservation et de l'expression de gènes ancestraux impliqués dans le commensalisme et la survie dans le tube digestif, qui constitue l'habitat primaire du colibacille.

5. Une population bactérienne qui fluctue au cours du temps

Cette structure de population est dynamique et interagit avec son hôte. On peut distinguer des souches dites résidentes, qui s'établissent de façon stable dans le tube digestif pendant des mois, voire des années, et des souches transitoires, qui ne persistent pas plus de quelques semaines dans la flore intestinale. Au fil du temps, et par l'apport constant de nouvelles souches d'*E. coli* par l'alimentation [33], l'eau de boisson, ou encore les mains (figure 1), les souches résidentes sont peu à peu remplacées par de nouvelles [26]. Il semblerait que chez l'Homme, la perte d'une souche résidente soit suivie par l'apparition d'une ou

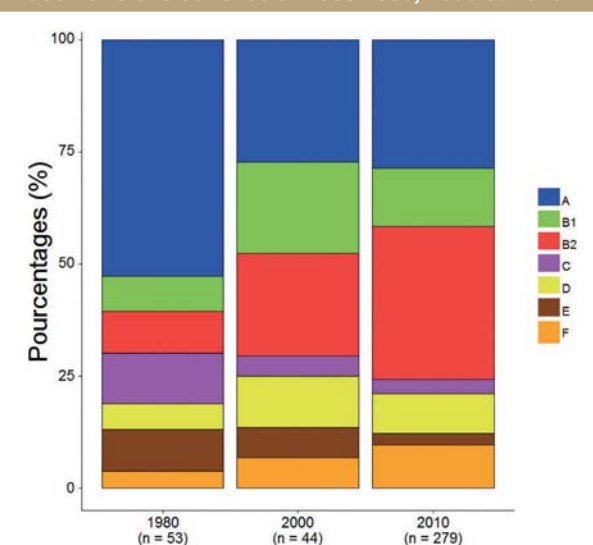
plusieurs souches peu persistantes, avant qu'une nouvelle souche résidente ne s'établisse de manière pérenne [26]. On trouve chez l'Homme, une, deux, voire trois souches résidentes qui coexistent sur des périodes plus ou moins longues. Souches dominantes et résidentes sont fréquemment les mêmes [26].

Dans une perspective plus large, on a observé une évolution de la structure de population dans la population parisienne entre les années 1980, 2000 et 2010, avec une augmentation de la prévalence du groupe phylogénétique B2 (9,4 % dans les années 1980, 22,7 % en 2000 et 34 % en 2010) (figure 5) et une diminution concomitante du groupe A (52,8 %, 27,3 % et 28,7 % respectivement) (figure 5) [34]. L'évolution des flores commensales d'*E. coli* de la population parisienne sur ces 30 dernières années reflète sans doute un changement des facteurs socio-économiques de la société française, tels que les habitudes alimentaires et le niveau d'hygiène.

6. Le microbiote intestinal, l'épicentre de l'émergence de la résistance chez *E. coli*

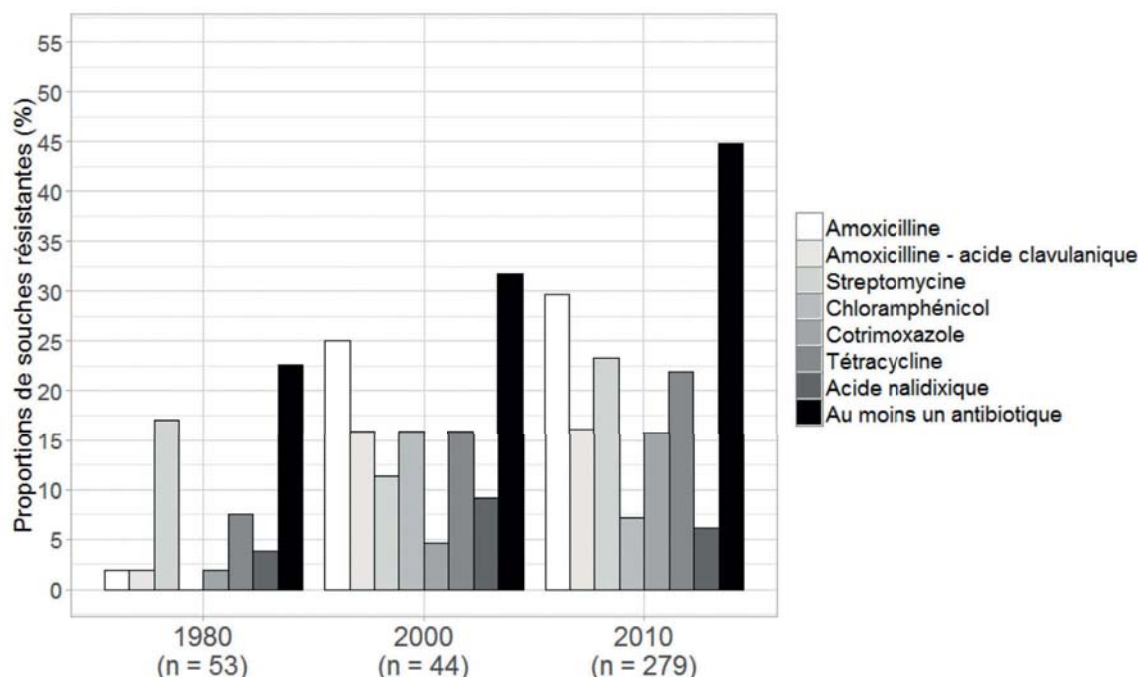
Aujourd'hui, le microbiote intestinal est reconnu comme le lieu d'émergence de nombreux facteurs de résistance aux antibiotiques, de leur amplification et de leur dissémination au sein d'une population, ce qui en fait un acteur essentiel à l'origine de la multiplication des infections à germes antibiorésistants [35]. Cette place centrale du microbiote intestinal dans la résistance aux antimicrobiens résulte de l'association de 3 facteurs. Premièrement, la densité très importante de bactéries au sein d'un environnement clos autorise des échanges nombreux de nutriments mais aussi et surtout de matériel génétique. Deuxièmement, la diversité de ces espèces, estimée à plus de 500 espèces de micro-organismes, fait du tube digestif le réservoir d'un pool de matériel génétique très varié. Enfin, la prise d'antibiotiques par l'hôte entraîne l'arrivée de molécules antibiotiques dans l'intestin, faisant disparaître ou modifiant le métabolisme de la flore sensible. Cette pression de sélection favorise la multiplication des échanges de matériel génétique codant pour des résistances et déstabilise l'ensemble de la flore intestinale par le jeu complexe des relations de coopération/prédation/compétition qui régit cet écosystème. La conjonction de ces trois facteurs fait du microbiote intestinal un terrain favorable à l'établissement de bactéries résistantes aux antibiotiques suite à la disparition de la flore sensible, qu'elles proviennent de l'extérieur ou qu'elles émergent du microbiote lui-même, par la possession ou l'acquisition de gènes codant pour des facteurs de résistance présents chez d'autres espèces du microbiote. Le niveau de perturbation d'un traitement antibiotique sur le microbiote d'un individu est fonction de l'étendue du spectre de la molécule administrée et de son mode d'élimination. Plus une molécule antibiotique a un spectre large et une élimination biliaire, et plus le risque qu'elle affecte l'équilibre du microbiote intestinal est important. Des études ont montré que les effets d'une prise d'antibiotiques sur la flore intestinale pouvaient persister jusqu'à quatre ans après le traitement [35].

Figure 5. Évolution de l'abondance relative des groupes phylogénétiques d'*E. coli* commensaux chez des Parisiens dans les années 1980, 2000 et 2010.



Le nombre de souches d'*E. coli* étudié dans chaque groupe est indiqué entre parenthèses. Le groupe A est indiqué en bleu, le groupe B1 en vert, le groupe B2 en rouge, le groupe C en violet, le groupe D en jaune, le groupe E en marron, et le groupe F en orange.

Figure 6. Évolution du portage d'*E. coli* commensaux antibiorésistants chez des Parisiens dans les années 1980, 2000 et 2010.



Le nombre de souches d'*E. coli* étudié dans chaque groupe est indiqué entre parenthèses. Les différents antibiotiques sont représentés par des nuances de gris du blanc au noir.

DR

Au sein du microbiote intestinal, les bactéries appartenant au genre *Escherichia* et plus particulièrement à l'espèce *E. coli* sont majoritairement incriminées [36], de par la grande plasticité de leur génome, leur capacité à résister dans l'environnement et à se transmettre d'un individu à un autre, quelles que soient leurs espèces respectives. *E. coli* est capable d'acquérir du matériel génétique *via* des éléments génétiques mobiles tels que les transposons, les plasmides, ou des bactériophages. On retrouve très souvent sur ces éléments génétiques mobiles d'autres gènes codant pour des facteurs de résistance à d'autres antibiotiques, à l'origine des bactéries multi-résistantes, tel que celles appartenant au groupe clonal CGA. Les souches du CGA sont responsables d'infections du tractus urinaire chez la femme et ont un plasmide qui porte des gènes de résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, aux sulfonamides, à la tétracycline et au triméthoprime, lequel plasmide a participé à la dissémination réussie de ces clones dans le monde entier [22].

L'émergence de ces facteurs de résistance au sein du microbiote intestinal est corrélée à la pression de sélection globale exercée par l'utilisation des antibiotiques à l'échelle d'une population, qui ne cesse de croître depuis les années 1940 [37]. Depuis les années 1980, on observe dans la population parisienne une augmentation du nombre de souches commensales d'*E. coli* résistants pour plusieurs familles d'antibiotiques (figure 6) [34]. Parmi les antibiotiques étudiés, seul le nombre de souches résistantes à la streptomycine stagne, ce qui peut s'expliquer par une diminution de la consommation de streptomycine, longtemps prescrite en France dans le cadre du traitement de la tuberculose,

associée à une co-sélection des gènes de résistance à d'autres antibiotiques sur des éléments génétiques mobiles. Parmi les antibiotiques les plus prescrits, partout dans le monde, on retrouve à la première place les β -lactamines, qui sont utilisées dans de nombreuses indications, aussi bien chez l'Homme que chez nos animaux domestiques. La résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries, plus particulièrement chez *E. coli*, est principalement due à la production d'enzymes appelées β -lactamases à large spectre (principalement de type TEM-1) et plus récemment β -lactamases à spectre étendu (BLSE), codées par des familles de gènes différents, dénommés *bla*TEM, *bla*SHV et surtout *bla*CTX-M. Si le signalement de souches pathogènes d'*E. coli* productrices de BLSE a commencé dans les années 1980, le portage fécal d'*E. coli* producteurs de BLSE dans le milieu communautaire a été rapporté pour la première fois en Espagne en 2001 et l'année suivante en Pologne. En quelques années, les études attestant de la présence de ces *E. coli* producteurs de BLSE dans le tube digestif d'individus en bonne santé se sont multipliées à travers le monde. La dynamique de propagation de ces *E. coli* semble s'être accélérée à la fin des années 2000. Avant 2008, les taux de portage dans la flore intestinale d'individus en bonne santé relevés partout dans le monde ne dépassaient jamais le seuil des 10 %. Après cette date, on assiste à des augmentations fulgurantes de la prévalence de ces bactéries au sein de certaines populations, comme dans des zones rurales en Thaïlande où la prévalence était de 69 % en 2010 [37]. L'émergence d'*E. coli* producteurs de BLSE dans le microbiote intestinal de nos animaux de rente et leur propagation vers l'Homme à travers la chaîne

agro-alimentaire sont un élément à mettre en cause. Les écosystèmes humains et animaux dans lesquels surviennent ces résistances sont perméables entre eux (**figure 1**) et des comparaisons génétiques de souches entre ces deux compartiments indiquent l'existence d'une circulation de souches résistantes et d'éléments génétiques mobiles véhiculant des gènes de résistance.

On arrive aujourd'hui au constat alarmant de la présence de ces *E. coli* producteurs de BLSE dans l'ensemble de la population mondiale, mais également, chez nos animaux domestiques, dans les rivières et dans les océans [37]. Si le réservoir de ces *E. coli* semble infini, il existe des différences régionales de quantités d'*E. coli* portés, et de dynamiques de contamination. Des études menées dans le Pacifique ouest, en Méditerranée orientale et en Asie du Sud-Est rapportent les taux de portage les plus élevés du monde. D'après l'OMS, plus d'un milliard d'individus seraient porteurs dans leur tube digestif d'entérobactéries productrices de BLSE en Asie du Sud-Est, contre 35 millions en Europe. Ces données suggèrent que la difficulté d'accéder à de l'eau potable, le faible niveau d'hygiène, la pauvreté et les densités fortes de populations sont des facteurs extrêmement efficaces pour la dissémination des *E. coli* producteurs de BLSE, comme c'est le cas pour tout autre micro-organisme ayant un mode de transmission féco-orale. Le rôle de l'eau contaminée par des *E. coli* producteurs de BLSE a été démontré dans de nombreux pays comme la Chine, la République Tchèque, l'Inde, le Brésil et le Congo [37]. Les voyages dans des pays à taux de portage élevé constitueraient un facteur de risque d'être colonisé par une souche d'*E. coli* producteur de BLSE. Une étude menée en 2012 en France a montré que 50 % des individus revenant de pays tropicaux avaient acquis durant leur séjour à l'étranger des *E. coli* producteurs de BLSE, ce taux d'acquisition variant de 31 % chez les individus revenant d'Amérique Latine à 72 % chez ceux de retour d'Asie [38]. La probabilité d'être colonisé dépendrait du taux de portage dans le pays visité, de la prise d'antibiotiques durant le séjour, de la durée du séjour, du degré d'hygiène, de la nourriture et de la qualité de l'eau de boisson. Ce portage serait alors de quelques semaines pour un individu en bonne santé, et augmenterait en cas de diarrhée ou de prise d'antibiotiques pendant le séjour [37, 38].

La réussite épidémiologique de ces *E. coli* producteurs de BLSE est à rapprocher de celle des enzymes de la famille CTX-M, qui a largement supplanté les autres familles de BLSE en vingt ans. Les allèles CTX-M représentent 90 % des allèles présents dans les *E. coli* producteurs de

BLSE en situation commensale. Il semblerait que l'allèle CTX-M-15 prédomine dans le monde entier, excepté dans le Pacifique Ouest où CTX-M-14 continue à être l'allèle dominant [37]. L'allèle CTX-M-15 s'est établi dans des souches du groupe clonal ST 131, qui appartient au sous-groupe I du groupe phylogénétique B2 et est très adapté au tube digestif de l'Homme. Cette acquisition s'est faite par le biais du plasmide IncF, inféodé à l'espèce *E. coli*. La captation de ce gène codant pour une BLSE a permis au ST 131 responsable de nombreuses infections extra-intestinales de résister aux traitements à base de céphalosporines de dernières générations [39, 40]. Ce clone à la fois pathogène et résistant à des antibiotiques, critique pour la santé humaine, a été isolé en situation commensale chez des individus en bonne santé dans de nombreux pays est aujourd'hui à l'origine d'une pandémie face à laquelle nous sommes de plus en plus démunis.

7. Conclusion

De par la répartition ubiquitaire, la diversité génotypique immense et le caractère de pathogène versatile, il est difficile de décrire de manière exhaustive en quelques pages l'ensemble des bactéries qui se regroupent sous l'étiquette d'*E. coli*. Bien qu'elle soit le modèle bactérien le plus étudié aujourd'hui, nous sommes loin de tout connaître sur cette bactérie qui fait régulièrement l'actualité de par les toxoinfections alimentaires qu'elle provoque ou l'émergence de clones résistants à l'échelle mondiale. L'émergence et la persistance de la résistance dans un milieu aussi complexe que le microbiote intestinal dépend de nombreux facteurs encore peu étudiés dont les traits propres aux bactéries concernées, comme la valeur sélective, le système immunitaire de l'hôte, et des facteurs écologiques locaux. Avec l'avènement des nouvelles méthodes de séquençage haut débit, l'étude du rôle du microbiote intestinal dans l'émergence de la résistance va passer à une vitesse supérieure. A l'heure où, quel que soit le domaine, la médecine ne peut plus se passer des antibiotiques, il est important d'observer les populations commensales d'*E. coli*, et plus largement le microbiote, avec lequel elles interagissent, pour détecter de manière précoce l'émergence de nouvelles résistances. Cela nous aidera à anticiper et prévenir d'autres pandémies de germes à la fois pathogènes et antibiorésistants. L'étude de cette bactérie est donc plus que jamais d'actualité.

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Penders J, Thijs C, Vink C, et al., Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006;118(2): 511–21.
- [2] Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, et al., The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol* 2010;8(3):207–17.
- [3] Gordon DM, Cowling A, The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiol. Read. Engl* 2003;149(12):3575–86.

- [4] Abraham S, Gordon DM, Chin J, et al., Molecular characterization of commensal *Escherichia coli* adapted to different compartments of the porcine gastrointestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol* 2012;78(19):6799–6803.
- [5] Chang DE, Smalley DJ, Tucker DL, et al., Carbon nutrition of *Escherichia coli* in the mouse intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004;101(19):7427–32.
- [6] Rang CU, Licht TR, Midtvedt T, et al., Estimation of Growth Rates of *Escherichia coli* BJ4 in Streptomycin-Treated and Previously Germfree Mice by In Situ rRNA Hybridization. *Clin. Diagn. Lab. Immunol* 1999;6(3):434–36.

- [7] Macpherson AJ, Uhr T, Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004;303(5664):1662–65.
- [8] Breton J, Tennaoune N, Lucas N, et al., Gut Commensal *E. coli* Proteins Activate Host Satiety Pathways following Nutrient-Induced Bacterial Growth. *Cell Metab* 2016; 23, (2):324–34.
- [9] Liévin V, Peiffer I, Hudault S, et al., Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 2000;47(5):646–52.
- [10] Van Donsel DJ, Geldreich EE, Relationships of salmonellae to fecal coliforms in bottom sediments. *Water Res* 1971;5(11):1079–87.
- [11] Savageau MA, *Escherichia coli* Habitats, Cell Types, and Molecular Mechanisms of Gene Control. *Am. Nat* 1983;122(6):732–44.
- [12] Berthe T, Ratajczak M, Clermont O, et al., Evidence for coexistence of distinct *Escherichia coli* populations in various aquatic environments and their survival in estuary water. *Appl. Environ. Microbiol* 2013;79(15):4684–93.
- [13] Touchon M, Hoede C, Tenaillon O, et al., Organised genome dynamics in the *Escherichia coli* species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet* 2009;5(1):e1000344.
- [14] Ochman H, Selander RK, Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural populations. *J. Bacteriol* 1984;157(2):690–93.
- [15] Selander RK, Levin BR, Genetic diversity and structure in *Escherichia coli* populations. *Science* 1980;210(4469):545–47.
- [16] Chaudhuri RR, Henderson IR, The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. *Infect. Genet. Evol* 2012;12(2):214–26.
- [17] Jauregui F, Landraud L, Passet V, et al., Phylogenetic and genomic diversity of human bacteremic *Escherichia coli* strains. *BMC Genomics* 2008;9:560.
- [18] Clermont O, Christenson JK, Denamur E, et al., The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol. Rep* 2013;5(1):58–65.
- [19] Ochman H, Wilson AC, Evolution in bacteria: evidence for a universal substitution rate in cellular genomes. *J. Mol. Evol* 1987;26(1–2):74–86.
- [20] Leconte G, Rachdi L, Darlu P, et al., *Escherichia coli* molecular phylogeny using the incongruence length difference test. *Mol. Biol. Evol* 1998;15(12):1685–95.
- [21] Escobar-Páramo P, Clermont O, Blanc-Potard AB, et al., A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol* 2004;21(6):1085–94.
- [22] Johnson JR, Murray AC, Kuskowski MA, et al., Distribution and characteristics of *Escherichia coli* clonal group A. *Emerg. Infect. Dis* 2005;11(1):141–45.
- [23] Clermont O, Gordon DM, Brisse S, et al., Characterization of the cryptic *Escherichia* lineages: rapid identification and prevalence. *Environ. Microbiol* 2011;13(9):2468–77.
- [24] Shulman ST, Friedmann HC, Sims RH, Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am* 2007;45(8): 1025–29.
- [25] Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, et al., Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect. Dis* 2011;11(9):671–76.
- [26] Sears HJ, Janes H, Saloum R, et al., Persistence of individual strains of *Escherichia coli* in man and dog under varying conditions. *J. Bacteriol* 1956;71(3):370–72.
- [27] Schlager TA, Hendley JO, Bell AL, et al., Clonal diversity of *Escherichia coli* colonizing stools and urinary tracts of young girls. *Infect. Immun* 2002;70(3):1225–29.
- [28] Smati M, Clermont O, Bleibtreu A, et al., Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *MicrobiologyOpen* 2015;4(4):604–15.
- [29] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al., Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473(7346):174–80.
- [30] Diard M, Garry L, Selva M, et al., Pathogenicity-associated islands in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* are fitness elements involved in intestinal colonization. *J. Bacteriol* 2010;192(19):4885–93.
- [31] Smati M, Clermont O, Le Gal F, et al., Real-time PCR for quantitative analysis of human commensal *Escherichia coli* populations reveals a high frequency of subdominant phylogroups. *Appl. Environ. Microbiol* 2013;79(16):5005–12.
- [32] Skurnik D, Bonnet D, Bernède-Bauduin C, et al., Characteristics of human intestinal *Escherichia coli* with changing environment. *Environ. Microbiol* 2008;10(8):2132–37.
- [33] Bettelheim KA, Cooke EM, O'Farrell S, et al., The effect of diet on intestinal *Escherichia coli*. *J. Hyg. (Lond.)* 1977;79(1):43–45.
- [34] Massot M, Daubié AS, Clermont O, et al., Phylogenetic, virulence and antibiotic resistance characteristics of commensal strain populations of *Escherichia coli* from community subjects in the Paris area in 2010 and evolution over 30 years. *Microbiol. Read. Engl* 2016;162(4):642–50.
- [35] Carlet J, The gut is the epicentre of antibiotic resistance. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 2012;1(1):39.
- [36] Sommer MOA, Church GM, Dantas G, The human microbiome harbors a diverse reservoir of antibiotic resistance genes. *Virulence* 2010;1(4):299–303.
- [37] Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, et al., Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin. Microbiol. Rev* 2013;26(4):744–58.
- [38] Ruppé E, Armand-Lefèvre L, Estellat C, et al., High Rate of Acquisition but Short Duration of Carriage of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae After Travel to the Tropics. *Clin. Infect. Dis.* 2015;61(4):593–600.
- [39] Nicolas-Chanoine MH, Blanco J, Leflon-Guibout V, et al., Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J. Antimicrob. Chemother* 2008;61(2):273–81.
- [40] Vimont S, Boyd A, Bleibtreu A, et al., The CTX-M-15-producing *Escherichia coli* clone O25b: H4-ST131 has high intestine colonization and urinary tract infection abilities. *PloS One* 2012;7(9): e46547.

Diagnostic des infections à *Escherichia coli* entérohémorragique

Patricia Mariani-Kurkdjian^a, Stéphane Bonacorsi^a

RÉSUMÉ

Les *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines ou *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont responsables d'infections variées allant de la diarrhée aqueuse à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique chez l'enfant, principalement l'enfant de moins de 3 ans, ou une micro-angiopathie thrombotique chez l'adulte. La virulence de ces *E. coli* est associée à la présence de toxines appelées Shigatoxines. Les bovins constituent un important réservoir pour ces bactéries et l'homme se contamine par ingestion d'aliments contaminés. Les EHEC sont considérés, comme des pathogènes émergents en santé publique, à l'origine de nombreuses épidémies de par le monde, consécutives principalement à la consommation d'aliments contaminés. L'utilisation des antibiotiques est controversée pour le traitement de ces infections. La prévention de ces pathologies graves passe par des règles simples d'hygiène et de prévention alimentaire. Le diagnostic des EHEC repose sur l'isolement et la mise en évidence de leurs gènes de virulence

***E. coli* entérohémorragiques (EHEC) - Microangiopathie thrombotique (MAT) - Shigatoxines (STX) - Syndrome hémolytique et urémique (SHU).**

1. Introduction

Les *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC, entérohémorragic *E. coli*), encore appelés *E. coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC, Shiga-toxin producing *E. coli*) ou *E. coli* producteurs de vérotoxines (VTEC, verotoxin producing *E. coli*), sont des agents pathogènes associés à des manifestations digestives allant de la diarrhée aqueuse bénigne à la colite hémorragique, pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant ou une micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte. Le SHU est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez les jeunes enfants. La létalité varie de 3 à 5 % et plus d'un tiers des malades conservent des séquelles rénales à long terme

^a Centre National de Référence associé *Escherichia coli* - *Shigella*
Service de Microbiologie Pr Bonacorsi
Hôpital Robert Debré
48 Boulevard Sérurier
75019 Paris

* Correspondance
patricia.mariani@rdb.aphp.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Diagnosis of Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) are responsible for gastrointestinal diseases such as diarrhea or bloody diarrhea and can lead to hemolytic uremic syndrome (HUS) in children or thrombotic microangiopathy (TMA) in adults. HUS is the leading cause of acute renal failure in young children. The most common EHEC serotype associated with human disease is O157:H7. Five major EHEC serotypes have been identified until now in Europe (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 and O145:H28), but a large number of other EHEC serotypes are also known like EHEC O104:H4 that recently caused two HUS outbreaks in Germany and France. The reservoir of EHEC is mainly the intestinal tract of ruminants. Transmission of EHEC to humans occurs through consumption of contaminated food or water and through direct contact from person to person or from infected animals (cattle in particular). The diagnosis of the EHEC infections relies on isolation of EHEC in stool samples or detection of genes encoding for Shigatoxins.

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) - Thrombotic microangiopathy (TMA) - Shigatoxins (STX) - Hemolytic uremic syndrome (HUS)

Depuis leur première identification en 1982 [1], les infections à EHEC sont devenues une préoccupation de santé publique importante dans plusieurs régions du monde, notamment sous leur forme épidémique et au travers de leurs complications que sont le SHU chez l'enfant et les MAT chez l'adulte [2, 3, 4].

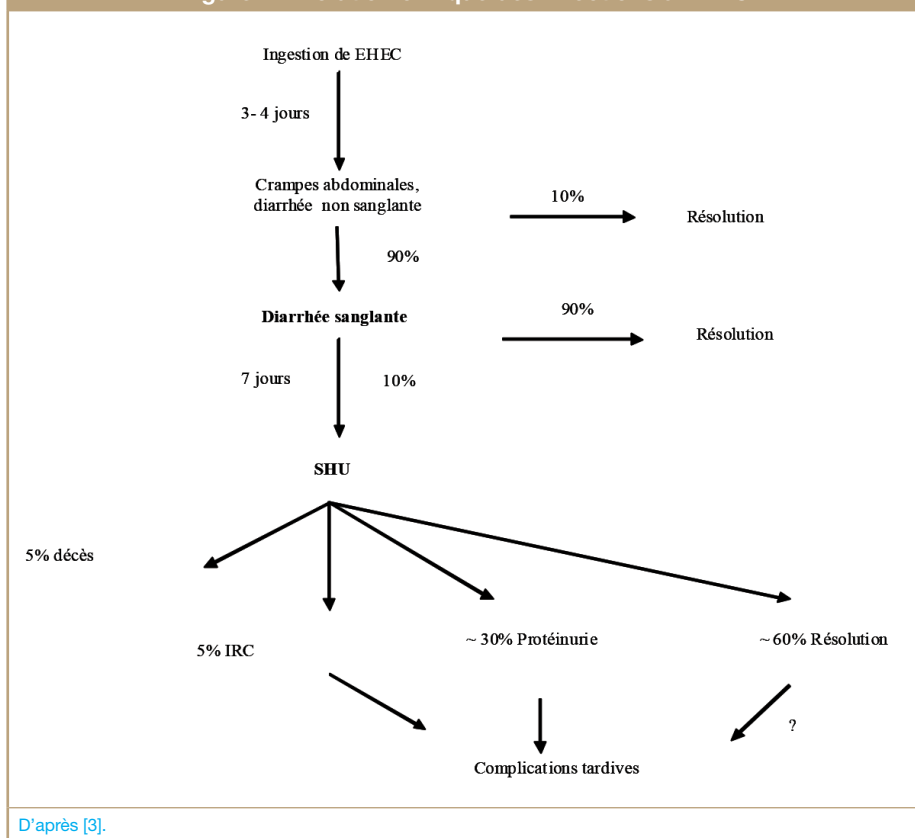
2. Virulence, aspects épidémiologiques et cliniques

2.1. Virulence des EHEC

La virulence des EHEC est associée à deux processus : la colonisation du tube digestif des patients et la production de toxines appelées Shiga-toxines (Stx) [1, 5, 6].

La plupart des souches EHEC provoquent des lésions dites « d'attachement et d'effacement » (A/E) des cellules de la muqueuse de l'iléon distal et du côlon, par l'intermédiaire d'une protéine de membrane, l'intimine, produit du gène *eae*, qui est lui-même situé au sein du locus chromosomique « LEE » (*locus of enterocyte effacement*). Ces souches sont appelées EHEC « typiques ».

Figure 1. Évolution clinique des infections à EHEC.



Des souches LEE-négatives ont, cependant, également été associées à des SHU. Ces souches EHEC « atypiques » possèdent d'autres facteurs d'adhésion permettant la colonisation de la muqueuse colique, tels que l'adhésine Saa ou les facteurs d'adhésion « entéroaggrégative » décrits chez *E. coli* O111:H2 en France en 1996, et chez la souche de *E. coli* O104:H4 responsable de l'épidémie allemande et de l'épidémie française de 2011 [7, 8].

Les toxines Stx produites localement traversent l'épithélium intestinal avant de rejoindre la circulation sanguine et d'atteindre des récepteurs spécifiques, les récepteurs glycolipidiques Gb3 (globotriosyl céramide 3), qui se trouvent à la surface des cellules endothéliales. Après internalisation, elles entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques et induisent des lésions de l'endothélium vasculaire, principalement intestinal, rénal et cérébral, ce qui explique les manifestations cliniques avec complications rénales et/ou neurologiques.

Deux classes de toxines Stx, Stx1 et Stx2, peuvent être produites, codées respectivement par les gènes *stx1* et *stx2*. Trois variants Stx1 et au moins 6 variants Stx2 ont été identifiés à ce jour. Le type de variant reflèterait à la fois l'origine des souches (moutons, porcs), leur phylogénie, mais aussi leur pouvoir pathogène. Certains variants semblent associés à des hôtes spécifiques, ce qui pourrait avoir un impact sur la virulence des souches pour l'homme [2, 5, 6]. La présence des variants de Stx est considérée comme un facteur prédictif de sévérité des infections à STEC avec évolution vers le SHU, en particulier les variants Stx2d activable [9] et Stx2c [10].

D'autres facteurs de virulence potentiels, codés par des gènes présents sur le chromosome ou sur des éléments génétiques mobiles [plasmides, phages ou îlots de pathogénicité] ont été décrits chez les souches EHEC [2, 5, 6]. Parmi ces facteurs, on retrouve en particulier :

- des toxines, telles que l'entérohémolysine (Ehx), l'enterotoxine thermostable [EAST1, *EnteroAggregative heat-Stable Toxin 1*], la cytotoxine subtilase (SubAB), et les cyclomodulines CDT (*Cytolethal Distending Factor*) et Cif (*Cycle inhibiting factor*);
- des protéases, telles que la catalase peroxydase KatP, la métalloprotéase StcE, et la sérine protéase EspP, qui est capable de cliver le facteur V de la coagulation et contribuerait au développement des colites hémorragiques chez les patients;
- des systèmes de capture du fer, notamment le sidérophore codé par l'îlot de pathogénicité HPI (*High Pathogenicity Island*) retrouvé chez les *E. coli* responsables d'infections extra intestinales chez l'homme;
- des systèmes de résistance à l'acidité gastrique.

Cependant les rôles respectifs joués par ces différents facteurs de virulence potentiels dans la pathogénie des EHEC sont encore à définir.

2.2. Aspects épidémiologiques

Les principaux modes de transmission des EHEC à l'homme sont la consommation d'aliments et d'eaux contaminés, la transmission interhumaine et le contact avec des animaux porteurs (bovins en particulier). La contamination se fait par voie orale [2].

Cinq sérotypes dominants d'EHEC ont été recensés jusqu'à présent en Europe (O157:H7, O26:H11, O103:H2, O111:H8 et O145:H28), mais environ 400 sérotypes ont été décrits [11]. Ce fut le cas très récemment du sérotype O104:H4, responsable de deux épidémies en Allemagne et en France en 2011 [4, 8, 11].

2.3. Aspects cliniques

La période d'incubation, en moyenne 3 à 4 jours (extrêmes : 2 à 10 jours), est plus longue que celle observée pour les autres diarrhées infectieuses [12]. L'évolution clinique des infections à EHEC est schématisée dans la **figure 1**.

2.3.1. Colite hémorragique

Principale manifestation clinique de l'infection à EHEC, la colite hémorragique est caractérisée par des crampes abdominales, une diarrhée initialement aqueuse puis sanglante chez un patient généralement apyrétique ou subfébrile. La diarrhée sanglante est retrouvée dans 90 % des cas diagnostiqués. L'évolution est généralement spontanément favorable en quelques jours [12, 13].

Les EHEC ne représentent pas les seuls micro-organismes potentiellement responsables de diarrhées sanglantes. En effet, des bactéries telles que *Campylobacter* sp., *Shigella* sp., *Clostridium difficile*, certains virus et certains parasites [amibes], peuvent également être des causes de diarrhées sanglantes.

2.3.2. Syndrome hémolytique et urémique

Le SHU est défini par l'association d'une anémie hémolytique microangiopathique avec présence d'hématies fragmentées (schizocytes), d'une thrombopénie et d'une insuffisance rénale aiguë. Il correspond à des lésions de MAT touchant les reins et éventuellement d'autres viscères, caractérisées par un épaississement des parois des capillaires glomérulaires et/ou des artéioles, et la présence de micro-agrégats plaquettaires dans les capillaires et les artéioles.

Le SHU constitue la première cause d'insuffisance rénale de l'enfant de moins de 3 ans. Le SHU typique ou post-diarrhée (« SHU D+ ») touche surtout l'enfant de moins de 3 ans et survient brutalement après une diarrhée prodromique sanglante dans la majorité des cas. L'apparition du SHU se fait en moyenne une semaine après le début des symptômes digestifs. D'autres organes que le rein peuvent être atteints : le système nerveux central (20 % des cas), une colite hémorragique sévère (10 à 20 % des cas), le pancréas, et le cœur (< 1 % des cas). Des facteurs de sensibilité individuelle de l'hôte semblent jouer un rôle déterminant dans le déclenchement de la maladie.

La proportion des cas d'infection intestinale à EHEC qui évoluent vers un SHU va de 3 à 9 % dans les formes sporadiques, jusqu'à 20 % dans certaines épidémies ; elle est plus importante chez l'enfant (10 % chez les enfants de moins de 10 ans) et les personnes âgées (10 à 20 %). On estime que les SHU « typiques » à EHEC représentent 95 % de l'ensemble des SHU de l'enfant [14, 15, 16, 17].

3. Diagnostic des infections à EHEC

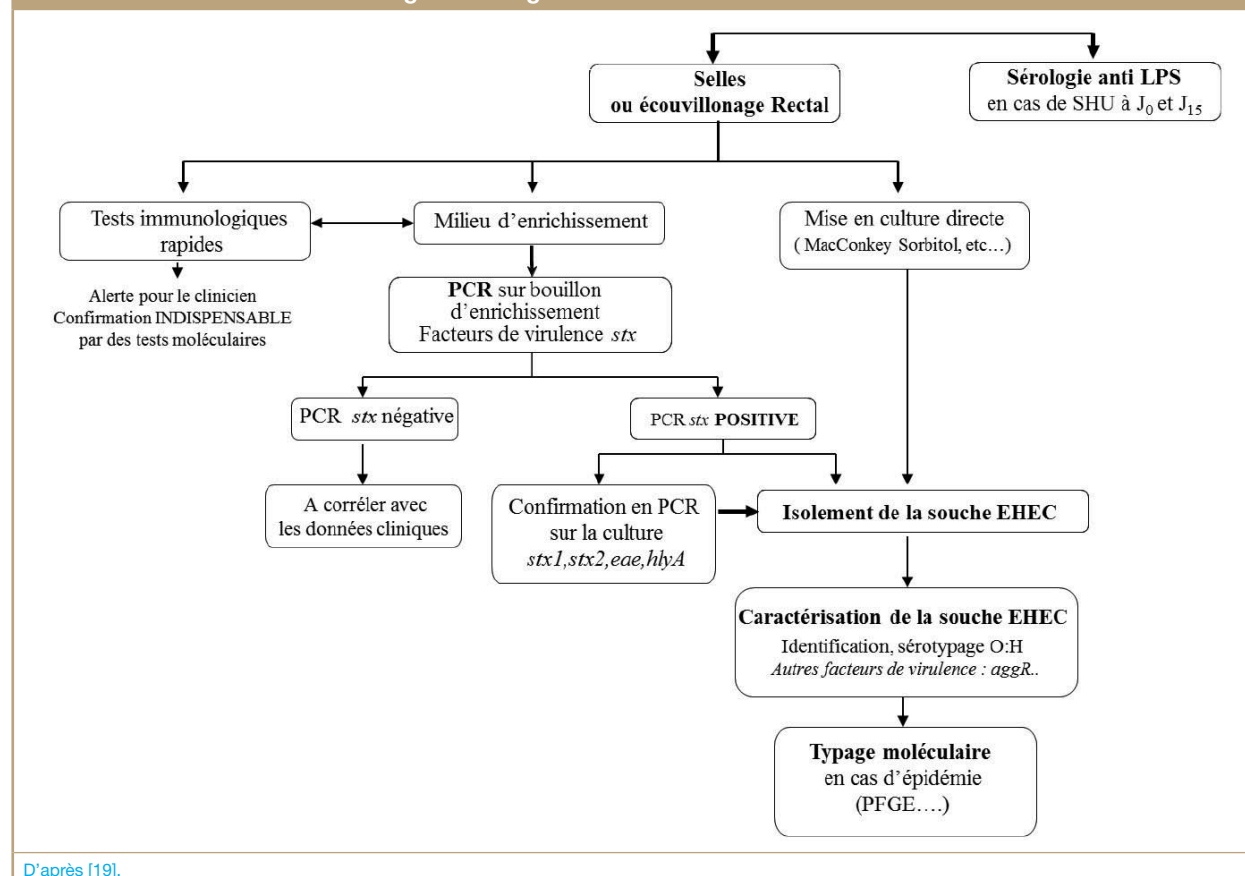
Les indications d'une recherche d'EHEC dans les selles sont les suivantes :

- diarrhée sanglante ou glairo-sanglante chez des patients pour lesquels la recherche de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* s'est révélée négative ;
- en cas de suspicion de SHU ou de MAT.

Cependant, ce critère strict de selles sanglantes peut amener à méconnaître le diagnostic. En effet, en France, la surveillance du SHU chez l'enfant de moins de 15 ans a montré que la diarrhée est sanglante dans moins de 60 % des cas de SHU [18].

Le diagnostic repose, d'une part, sur la mise en évidence, directement à partir des selles et/ou après culture, des principaux gènes de virulence des EHEC (*stx* et *eae*) et, d'autre part, sur la présence d'anticorps spécifiques anti-lipopolysaccharide (anti-LPS) [11, 19, 20] (figure 2).

Figure 2. Diagnostic d'une infection à EHEC.



D'après [19].

Tableau I: Tests immunologiques disponibles.

Test	Laboratoire	Méthode	Cible	Specimen
SHIGA TOXIN QUIK CHEK	Alere	Immunochromatographie	Toxines STX1 et STX2	Selles Bouillon d'enrichissement
RIDA®QUICK Verotoxin / O157 Combi	R-Biopharm	Immunochromatographie	Antigène O157 Toxines [sans distinction]	Bouillon d'enrichissement
ImmunoCard STAT ! EHEC	Meridian Biosciences	Immunochromatographie	Toxines STX1 et STX2	Bouillon d'enrichissement
BioStar OIA SHIGATOX	Inverness Medical	OIA	Toxines Sans différenciation	Selles, bouillon d'enrichissement, souche
Duopath Verotoxins Gold Labeled immunosorbent Assay	Merck	Immunochromatographie	Toxines STX1 et STX2	Selles, bouillon d'enrichissement, souche
VTEC Screen «Seiken»/Denka Seiken RPLA	Denka Seiken [Japan]	Reversed passive latex agglutination [RPLA]	Toxines STX1 et STX2	Souche

3.1. Prélèvements

Le diagnostic des infections à EHEC est difficile, ces bactéries étant rapidement éliminées du tube digestif. La quantité présente dans les selles est très faible ($< 10^2$ UFC/g de selles), surtout au moment du SHU. Une étude réalisée par Tarr *et al.* a montré qu'au cours d'un SHU, le recueil des selles doit s'effectuer au maximum 4 à 6 jours après le début des prodromes digestifs pour que l'analyse soit contributive [21].

Les selles peuvent être recueillies également par écouvillonnage rectal, les patients admis pour SHU présentant souvent un arrêt du transit intestinal.

Le prélèvement doit être fait avant toute prise d'antibiotique et doit être transporté rapidement au laboratoire, ou conservé à +4 °C et envoyé dans un milieu de transport si l'analyse n'est pas réalisée sur place.

3.2. Mise en évidence des toxines et des gènes de virulence

3.2.1. Effet cytopathogène

La technique de référence pour la recherche de toxines Stx libres dans les selles ou sur des souches isolées, est la cytotoxicité sur cellules Vero ou HeLa, qui doit être neutralisée par un antisérum anti-Stx pour affirmer que la cytotoxicité observée est bien liée à la présence d'une activité toxique de type Stx. Ce test est spécifique, mais il est difficile à mettre en œuvre et ne peut être effectué qu'en laboratoire spécialisé [3].

3.2.2. Méthodes moléculaires

Compte tenu de la présence en très faible quantité des EHEC dans les selles, l'amplification génique *in situ* par PCR des gènes *stx* et/ou du gène *eae* représente une méthode de choix. Elle constitue la méthode la plus sensible pour détecter les EHEC à partir des selles, généralement après un enrichissement de 4 à 6 heures en eau peptonée.

De très nombreux systèmes de PCR ont été décrits. Les gènes *stx* (*stx1*, *stx2* et variants) et *eae* peuvent être recherchés séparément ou par PCR multiplex. Les méthodes de PCR en temps réel permettent un diagnostic plus rapide

que les méthodes conventionnelles de PCR [11, 20, 22]. De nombreux systèmes de PCR multiplex automatisés sont maintenant disponibles pour la recherche de pathogènes gastro-intestinaux. Leur pertinence concernant la recherche d'EHEC reste à évaluer.

En cas de positivité de la PCR, l'isolement de la bactérie est indispensable dans un but épidémiologique mais aussi pour caractériser les facteurs de pathogénicité de la souche en cause [11] et en particulier les variants *stx* considérés comme un facteur prédictif de sévérité des infections à EHEC [10].

Cependant, l'isolement de la souche est parfois très difficile et nécessite de pratiquer de nombreuses PCR sur colonies isolées. Cette recherche peut malgré tout s'avérer infructueuse.

3.3. Tests immunologiques

De nombreux tests immunologiques permettent la détection des EHEC directement dans les selles ou après une phase d'enrichissement en bouillon : tests EIA (*Enzyme ImmunoAssay*), immunochromatographie, OIA (*Optical ImmunoAssay*), etc. (tableau I). Ces tests détectent l'antigène O157 et/ou les toxines Stx. Ils doivent être utilisés selon les instructions strictes des industriels. Ils sont faciles à mettre en œuvre et constituent lorsqu'ils sont positifs une alerte pour le clinicien ; cependant, bien qu'ayant une bonne sensibilité et une bonne spécificité, leur lecture est parfois difficile et ils peuvent donner des résultats faussement positifs par des réactions croisées avec des virus entériques ou d'autres bactéries. Ils doivent toujours être confirmés par des méthodes moléculaires. [11, 23]

3.4. Isolement et caractérisation des souches

Les EHEC étant présents en quantité parfois très faible dans les selles, il est indispensable de réaliser un enrichissement des selles [21]. En médecine humaine, il est classique d'utiliser de l'eau peptonée tamponnée. Après cette phase d'enrichissement de 4 à 6 heures, la selle est mise en culture sur des milieux spécifiques [2,3].

3.4.1. EHEC de sérotype O157:H7

La plupart des souches d'EHEC O157:H7 ne fermentent pas le sorbitol et ne produisent pas de β -glucuronidase, ce qui permet l'utilisation de milieux dédiés comme le milieu de Mac Conkey Sorbitol [SMAC] ou le milieu de Mac Conkey Sorbitol – CT [Céfixime-Tellurite], sur lesquels les colonies suspectes apparaissent transparentes [1, 2, 3] ; des souches d'EHEC O157:H7 fermentant le sorbitol ont cependant été décrites [11]. Des milieux chromogènes pour la détection des souches O157 ont également été développés, comme le milieu CHROMagar O157, sur lequel les EHEC O157:H7 donnent des colonies mauves (figure 3). Dans tous les cas, les colonies suspectes doivent être agglutinées par un sérum anti O157 (et éventuellement H7), et il faut confirmer qu'elles appartiennent bien à l'espèce *E. coli* [20].

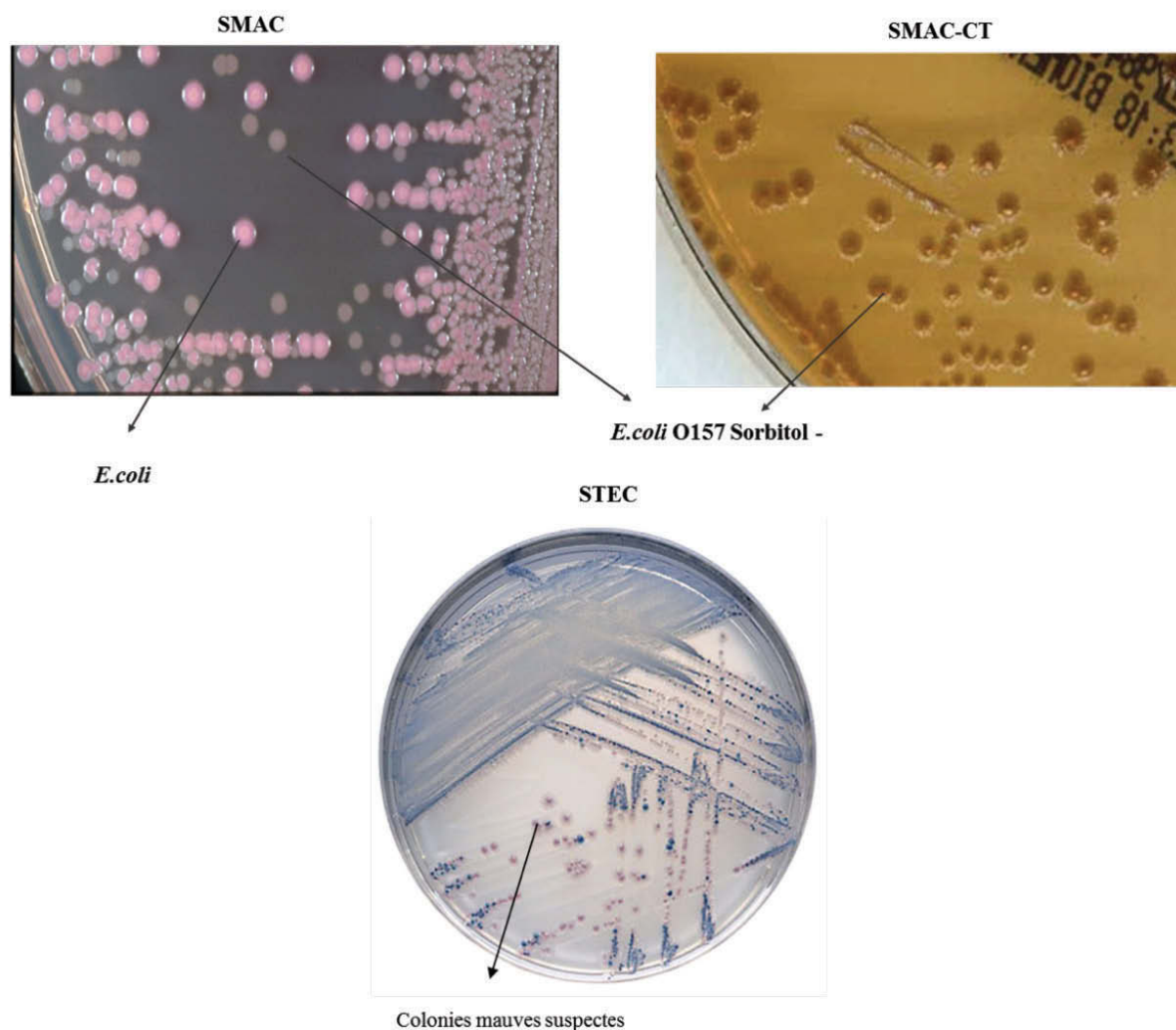
3.4.2. EHEC non O157

Les EHEC non O157 n'ont aucune propriété biochimique commune permettant leur détection sur un milieu particulier. On utilise les milieux traditionnels pour les bactéries

entéropathogènes (Drigalski, Hektoen), ainsi que des milieux chromogènes pour entérobactéries ou des milieux chromogènes permettant la mise en évidence de certains sérotypes d'EHEC, par exemple le milieu STEC qui permet d'isoler les bactéries productrices de toxines Stx (colonies mauves) [24]. La recherche des EHEC non O157 nécessite d'avoir recours à des méthodes moléculaires pour rechercher les gènes de virulence. L'utilisation de gélose au sang de mouton permet également la mise en évidence de l'entérohémolysine, présente chez environ 85 % d'EHEC [11, 23].

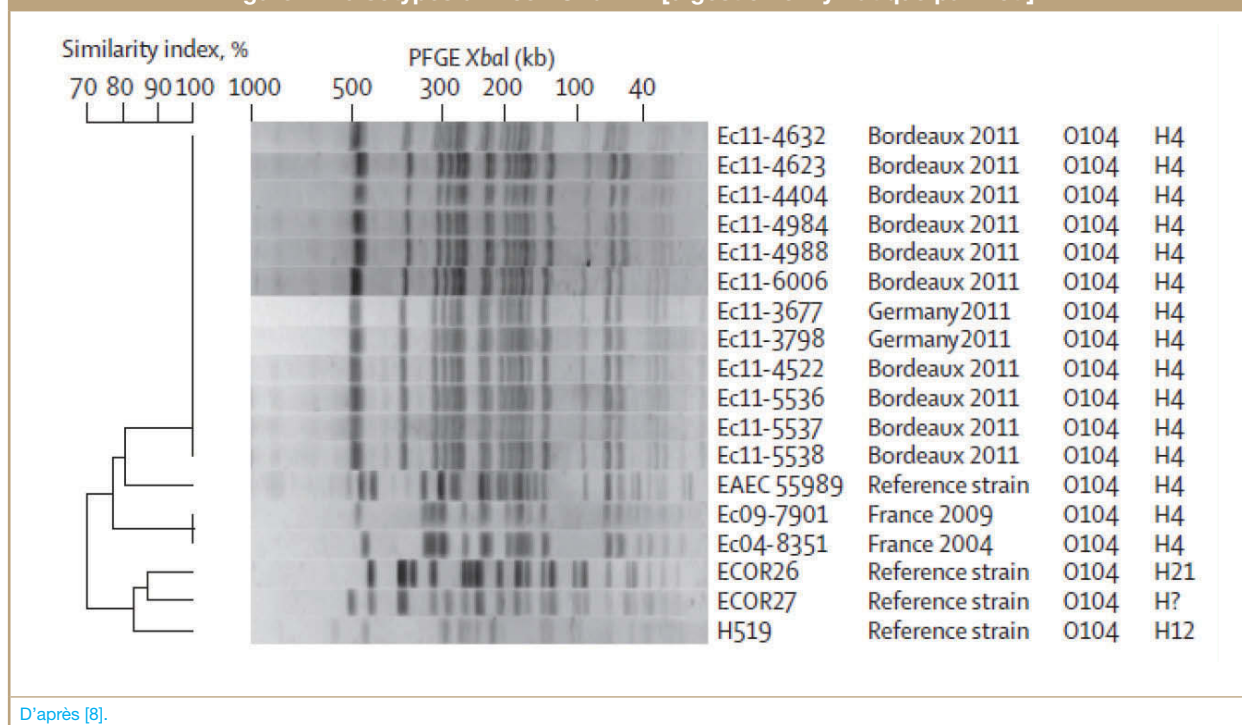
Le sérotypage O par agglutination des colonies à l'aide des sérums spécifiques anti-O [dirigés contre le lipopolysaccharide, ou LPS], permet de détecter certains sérotypes connus pour être des EHEC (ex. : O26, O111, O55, O145, etc.) Lorsque ce test est positif pour l'un des sérotypes, la recherche des gènes de virulence doit être pratiquée. Le sérotypage H (antigènes flagellaires) peut être réalisé secondairement (agglutination ou PCR du gène *fliC*). Le sérotypage des souches est utile pour les études épidémiologiques [11, 20, 23]. Cependant, les sérums commercialisés ne couvrent pas tous les sérogroupes et il peut

Figure 3. Morphologie des colonies d'*E. coli* O157:H7 sur les milieux SMAC, SMAC-CT et STEC.



DR

Figure 4. Pulsotypes d'*E. coli* O104:H4 [digestion enzymatique par NotI].



D'après [8].

exister des réactions croisées; il faudra avoir recours au sérotypage moléculaire.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques ne doit pas être réalisée en routine. En effet, actuellement, l'utilisation d'antibiotiques n'est pas recommandée dans les diarrhées à EHEC, car elle constitue un facteur de risque de déclenchement d'un SHU par libération de toxines Stx [25]. L'isolement des souches est indispensable pour des études d'épidémiologie moléculaire (« pulsotypie », « Rep-PCR », « MLVA »...) afin de déterminer l'origine d'une épidémie (comparaison avec les souches animales ou alimentaires), ou de différencier les cas sporadiques des cas épidémiques (figure 4) [8, 11].

3.5. Sérodiagnostic

Dans la majorité des cas, les malades développent des anticorps anti-LPS, dont la détection est réalisée sur un sérum précoce et le cas échéant un sérum tardif afin d'observer une augmentation du titre des anticorps attestant de l'infection [3, 20, 22, 23, 25]. L'importance de la réponse immunitaire est directement liée à la sévérité de la maladie. La détection des anticorps anti-LPS de 8 sérogroupes (O157, O26, O91, O103, O111, O128, O145, O104) est réalisée au Centre National de Référence (CNR) *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* (Institut Pasteur, Paris). Les 3 classes d'anticorps (IgG, IgM et IgA) sont détectables précocement, à un titre souvent très élevé, et permettent d'attester de l'infection même plusieurs semaines après le début des prodromes digestifs.

La recherche de ces anticorps est utile pour le diagnostic et pour des études épidémiologiques lorsque la mise en évidence directe des gènes codant pour les toxines Stx et/ou des EHEC dans les selles est négative, ou n'a pas pu être réalisée [19].

4. Surveillance des infections à EHEC

En France à ce jour, la recherche d'EHEC dans les selles n'est pas réalisée de façon systématique chez les patients ayant une diarrhée glaireuse ou glairo-sanglante. Pour cette raison, les épidémies d'infections à EHEC ne sont repérées qu'à partir d'un premier cas compliqué de SHU ce qui leur confère un caractère de gravité potentielle (insuffisance rénale, séquelles neurologiques, voire décès).

La surveillance des infections à EHEC est basée sur la surveillance du SHU chez l'enfant de moins de 15 ans mise en place en France en 1996 par l'Institut de Veille Sanitaire [InVS], en collaboration avec la Société de Néphrologie Pédiatrique. Les partenaires du réseau de surveillance sont les 25 services ou unités de Néphrologie Pédiatrique répartis dans les CHU sur tout le territoire métropolitain, le CNR *E. coli*, *Shigelle-Salmonella* (Institut Pasteur, Paris) et le CNR associé *Escherichia coli* - (Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris). Entre 1996 et 2010, 1378 cas de SHU ont été notifiés à l'InVS. Chaque année, 75 à 105 cas de SHU D+ surviennent en France chez des enfants de moins de 15 ans, l'incidence moyenne annuelle étant de 0,8/105 enfants de moins de 15 ans (extrêmes: 0,6/105 en 1998 et 1,0/105 en 2005 et en 2010). Le système de surveillance et son réseau ont permis de détecter quatre épidémies d'infections à STEC avec une source alimentaire commune identifiée [18].

En France, en 2014, chez les enfants atteints de SHU, l'incidence du SHU est de 0,99/105. Le sérotype O157 reste le plus fréquent (28 %) suivi du sérotype O26 (18 %) et d'un sérotype émergent depuis 2005, le sérotype O80 (16 %) [26].

5. Traitement des infections à EHEC

5.1. Faut-il ou non administrer des antibiotiques au stade de l'infection gastro-intestinale à EHEC ?

Plusieurs études rétrospectives et prospectives suggèrent que les antibiotiques augmentent le risque de SHU, probablement par relargage des toxines Stx lors de la lyse bactérienne [27]. Une méta-analyse de 20 études (~ 2500 patients) qui ont comparé le risque de développer un SHU selon que le patient avait ou non reçu des antibiotiques au stade de la diarrhée, n'a pas permis de conclure [28]. À ce jour, il est donc recommandé de ne pas donner d'antibiotiques aux patients ayant une diarrhée à EHEC [25]. Toutefois, pour certains antibiotiques, l'effet observé au travers des différentes études est relativement constant et est renforcé par des études *in vivo*. Ainsi, les fluoroquinolones et le cotrimoxazole dans les études *in vitro* induisent une cytotoxicité en lien avec la surproduction de shigatoxine et ont un effet délétère sur la fonction rénale et les lésions cérébrales dans les modèles animaux. *A contrario*, l'azithromycine dans les études *in vitro* induit le plus souvent une production faible ou nulle de shigatoxine et n'induit pas de cytotoxicité. De plus les modèles *in vivo* et les propriétés intrinsèques anti-inflammatoires de l'azithromycine suggèrent qu'elle pourrait avoir un effet bénéfique sur l'évolution des infections à EHEC, avec une réduction de la mortalité et un effet neuroprotecteur [29]

5.2. Traitements de demain

Plusieurs traitements sont à l'étude.

5.2.1. Traitements neutralisant les toxines Stx

Il existe plusieurs approches de ce type, basées sur l'utilisation de polymères du récepteur Gb3 administrés par voie orale, d'analogues solubles du récepteur Gb3 administrés par voie intraveineuse, ou encore de probiotiques donnés par voie orale qui produisent un analogue du récepteur Gb3. Ces substances protègent la souris de doses létales d'EHEC [16, 17, 25]. Des études chez l'homme sont en cours.

5.2.2. Anticorps monoclonaux humanisés anti-Stx

Les anticorps monoclonaux anti-Stx préviennent la toxicité des toxines Stx sur cellules HeLa, prolongent la survie des souris infectées par des EHEC, et sont efficaces dans le modèle de

SHU chez le cochonnet (survie de 90 % chez les animaux traités versus 10 % chez les contrôles non traités) [15, 25].

5.2.3. Anticorps monoclonaux inhibant l'activation du complément

L'utilisation d'un anticorps monoclonal inhibant l'activation du complément (Eculizimab) a récemment montré son efficacité dans le traitement du SHU post-diarrhée sévère de l'enfant [30]. Des études complémentaires sont en cours chez l'homme.

6. Prévention des infections à EHEC

Les mesures de prévention des infections à STEC disponibles dans la fiche d'information éditée en 2006 par l'InVS (<http://www.invs.sante.fr>), restent malheureusement mal connues des jeunes parents, et même des professionnels s'occupant de jeunes enfants. Des précautions aussi simples que la cuisson à cœur des steaks hachés, la règle de ne jamais donner de produits laitiers non pasteurisés aux jeunes enfants, et le lavage des mains, doivent être rappelées aux parents et à ceux qui s'occupent de jeunes enfants.

7. Conclusion

Les EHEC sont responsables de toxi-infections alimentaires pouvant être à l'origine de pathologies graves. Ils représentent une préoccupation de santé publique, en particulier chez l'enfant de moins de 3 ans. La prévention de ces pathologies graves passe par des règles simples d'hygiène alimentaire qui doivent être connues de tous. En France à ce jour, la recherche d'EHEC dans les selles n'est pas réalisée de façon systématique chez les patients ayant une diarrhée glaireuse ou glairo-sanglante. Pour cette raison, les épidémies d'infections à EHEC ne sont repérées qu'à partir d'un premier cas compliqué de SHU ce qui leur confère un caractère de gravité potentielle (insuffisance rénale, séquelles neurologiques, voire décès). L'apport des laboratoires de biologie médicale et leur collaboration avec le CNR et le CNR associé, sont essentiels pour améliorer la surveillance épidémiologique des SHU et estimer l'incidence des diarrhées à EHEC en France.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Karmali MA, Steele BT, Petric M, et al. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* 1983; 1:619-20.
- [2] Brugère H, Auvray F, Mariani-Kurkdjian P, et al. *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC): définitions, virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC). *Feuilles de Biologie* 2013; 311:1-8
- [3] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Bilan des connaissances relatives aux *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC). Maisons-Alfort: Afssa; 2003. 220 p. Disponible à : <http://www.anses.fr/Documents/MIC-Ra-STEC.pdf>.

- [4] Frank C, Werber D, Cramer JP et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med* 2011; 365(19):1771-80
- [5] Gyles GL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. *J Anim Sci*, 2007; 85:E45-E62.
- [6] Croxson MA, Finlay BB. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 2010; 8(1):26-38.
- [7] Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(9):671-6.
- [8] Mariani-Kurkdjian P, Bingen E, Gault G et al. *Escherichia coli* O104:H4 south-west France, June 2011. *Lancet Infect Dis* 2011; 11(10):732-3.

- [9]. Bielaszewska M, Friedrich AW, Aldick T, et al. Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome. Clin Infect Dis. 2006; 43(9):1160-7
- [10]. Orth D, Grif K, Khan AB, et al. The Shiga toxin genotype rather than the amount of Shiga toxin or the cytotoxicity of Shiga toxin *in vitro* correlates with the appearance of the hemolytic uremic syndrome. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;59(3):235-42
- [11]. EFSA. Scientific Opinion on VTEC – seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. The EFSA Journal 2013; 11(4):3138.
- [12]. Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev 1991; 13:60-98.
- [13]. Tarr PI. *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. Clin Infect Dis 1995; 20: 1-8.
- [14]. Loirat C, Mariani-Kurkdjian P, Fremaux-Bacchi V. Le syndrome hémolytique et urémique en 2013. Arch Pédiatr 2013; 20:827-30
- [15]. Mele C., Remuzzi G., Noris M. Hemolytic uremic syndrome. Semin Immunopathol. 2014 Jul;36(4):399-420.
- [16]. Siegler R, Oakes R. Hemolytic uremic syndrome; pathogenesis, treatment, and outcome. Curr Opin Pediatr 2005; 17:200-4.
- [17]. Thorpe CM. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. Clin Infect Dis 2004; 38:1298-303.
- [18]. King L, Mariani-Kurkdjian P, Gouali M. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique chez les enfants de moins de 15 ans en France. BEH Hors-série, 9 mai 2012
- [19]. Espié E, Mariani-Kurkdjian P, Filliol I, et al. Infections humaines à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines en France: aspects cliniques, diagnostiques et épidémiologiques. RFL 2008; 38 [400]:59-65.
- [20]. Gouali M, Weill FX. Les *Escherichia coli* entérohémorragiques: des entérobactéries d'actualité. Presse Med 2013; 42[1]:68-75.
- [21]. Tarr PI, Neill MA, Clausen CR, et al. *Escherichia coli* O157:H7 and the hemolytic uremic syndrome: importance of early cultures in establishing the etiology. J Infect Dis 1990; 162[2]:553-6.
- [22]. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin Microbiol Rev 1998; 11:450-479.
- [23]. Recommendations for diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections by clinical laboratories. MMWR, October 16, 2009; 58, No. RR-12.
- [24]. Gouali M, Ruckly C, Carle I, et al. Evaluation of CHROMagar STEC and STEC O104 chromogenic agar media for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in stool specimens. J Clin Microbiol 2013; 51(3):894-900.
- [25]. Loirat C, Saland J, Bitzan M. Management of Hemolytic uremic syndrome; Presse Med. 2012;41(3 Pt 2):e115-3
- [26]. Bruyand M., Mariani-Kurkdjian P., Gouali M., Van Cauteren D., de Valk H., et le réseau des néphrologues pédiatres. Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 2014 <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Risques-infectieux-d-origine-alimentaire/Syndrome-hemolytique-et-uremique/Donnees-epidemiologiques-du-SHU-chez-l-enfant-age-de-moins-de-15-ans-en-France>
- [27]. Scheiring J, Andreoli SP, Zimmerhackl LB. Treatment and outcome of Shiga-toxin-associated haemolytic uremic syndrome (HUS). Pediatr Nephrol 2008; 23:1749-60.
- [28]. Panos GZ, Betsi GI, Falagas ME. Systematic review: are antibiotics detrimental or beneficial for the treatment of patients with *Escherichia coli* O157:H7 infection? Aliment Pharmacol Ther 2006; 24:731-42.
- [29]. Haut Conseil de Santé Publique. Conduite à tenir en cas de gastroentérites à *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) Rapport 23 janvier 2015
- [30]. Lapeyraque AL, Malina M, Fremaux-Bacchi V, et al. Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. N Engl J Med 2011 ; 364(26): 2561-3.

Conduite à tenir en cas de gastroentérites à *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC)

Rapport du Haut Conseil de Santé Publique du 23 janvier 2015 pour la prévention de la transmission interhumaine dans l'entourage d'un cas isolé et pour la gestion de cas groupés en collectivités

Nathalie van der Mee-Marquet^{a,b} pour le groupe de travail du Haut Conseil de Santé Publique^b

RÉSUMÉ

Les gastroentérites à *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) surviennent suite à la consommation de produits alimentaires contaminés et peuvent être à l'origine de complications sévères chez les jeunes enfants et les personnes âgées telles que le syndrome hémolytique et urémique (SHU). Dans l'entourage d'un cas, la transmission interhumaine est possible et peut donner lieu à des épisodes épidémiques. Suite à la survenue d'infections à EHEC en octobre-novembre 2012 dans une crèche du Morbihan, le Directeur Général de la santé a adressé au Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) une saisine relative à la conduite à tenir en cas de gastroentérites à EHEC. S'appuyant sur une analyse des données existantes, le HCSP a émis des recommandations précisant la conduite à tenir pour prévenir la transmission interhumaine dans l'entourage d'un cas isolé et pour la gestion de cas groupés en collectivités (dépistage, traitement, mesures d'hygiène et d'éviction). Le présent article a pour objet de présenter ces recommandations, qui sont par ailleurs téléchargeables sur le site du HCSP (www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=494).

Escherichia coli entérohémorragique (EHEC) - Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) - Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU).

SUMMARY

Management of gastroenteritis due to shig-toxin-producing *E. coli* (EHEC)

Diarrhea due to Shiga-toxin-producing *E. coli* occurs following consumption of contaminated food items, and may be complicated by diarrhea-associated Hemolytic Uremic Syndrome usually in young children and elderly. Sporadic cases may be followed by outbreaks. Here we present the french guidelines recently published by the "Haut Conseil de Santé Publique" for the diagnosis and treatment of diarrhea due to Shiga-toxin-producing *E. coli*, and the infection control measures to conduct facing one sporadic case or a cluster of cases.

Shiga-toxin-producing *E. coli* - French Guidelines - diarrhea-associated Hemolytic Uremic Syndrome.

1. Introduction

Les investigations d'épidémies d'infections à EHEC ont permis d'établir les principaux mécanismes et les facteurs de risque de la transmission interhumaine, et dans un deuxième temps, de définir les mesures à mettre en œuvre pour

prévenir la transmission à partir d'un cas isolé et stopper la diffusion épidémique au sein d'une collectivité. Suite à la survenue d'infections à EHEC en octobre-novembre 2012 dans une crèche du Morbihan [1], le Directeur Général de la santé a adressé au Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) une saisine relative à la conduite à tenir en cas de gastroentérites à EHEC. S'appuyant sur une analyse des données existantes, le HCSP a émis des recommandations précisant la conduite à tenir pour prévenir la transmission interhumaine dans l'entourage d'un cas isolé et pour la gestion de cas groupés en collectivités.

Le document du HCSP souligne la place essentielle des mesures d'hygiène, et celle du diagnostic des infections à EHEC, aujourd'hui essentiellement réalisé dans le cadre des syndromes urémiques et hémolytiques (SHU). De plus, les recommandations apportent les données les plus récentes concernant un sujet qui fait débat : la place des traitements antibiotiques (en particulier, celle de l'azithromycine) pour le traitement des infections à EHEC. Enfin, et compte tenu des difficultés rencontrées jusqu'ici sur le terrain, les mesures de prévention pour la transmission interhumaine associées à la détection des porteurs sont clarifiées. Les très nombreuses références bibliographiques à partir desquelles ont été élaborées les recommandations sont mentionnées dans le document du HCSP <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=494>. [2].

^a Département de Microbiologie,
Service de Bactériologie et Hygiène
Hôpital Trousseau, CHRU de Tours

^b Groupe de travail du Haut Conseil de Santé Publique

Gérard Chéron (HCSP-CSMT, président du groupe de travail), Stéphane Bonacorsi (CNR associé *E. coli*), Mathias Bruyand (InVS), Lisa King (InVS), Corinne Le Goaster (SG-HCSP), Chantal Loirat (pédiatre néphrologue, Hôpital Robert Debré), Patricia MARIANI-KURKDJIAN (CNR associé *E. coli*), Isabelle Pellanne (ANSM), Véronique Vaillant (InVS), Nathalie van der Mee-Marquet (HCSP-CSMT), François-Xavier Weill (CNR *E. coli*, *Shigella* et *Salmonella*).

* Correspondance

n.vandermee@chu-tours.fr

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

2. Mécanismes et facteurs de risque de la transmission interhumaine

Les voies de contamination des EHEC sont diverses : ingestion d'aliments contaminés, contact avec des animaux excréteurs ou leur environnement et transmission interhumaine.

Hors contexte épidémique, la part des infections à EHEC secondaires à une transmission interhumaine est encore imprécise. Mais à l'inverse, cette voie de transmission est établie dans 14 à 39 % des épidémies, avec un rôle important des porteurs symptomatiques [3]. Dans la littérature sont rapportées de nombreuses épidémies concernant le plus souvent des collectivités d'enfants < 5 ans, et des cas groupés détectés au sein du foyer familial dans la fratrie d'un cas index enfant [4, 5].

Les EHEC excrétés par les sujets porteurs sont à l'origine de la transmission interhumaine. Chez les personnes symptomatiques (présentant des symptômes digestifs) et post-symptomatiques (après la disparition des symptômes), la durée du portage digestif des EHEC varie en général entre 5 et 30 jours mais peut être prolongée (> 3 semaines jusqu'à plusieurs mois), en particulier chez l'enfant (> 4 ans) [6] ; le portage peut être intermittent. Chez les sujets asymptomatiques, fréquence et durée de portage sont mal connues [7]. Plusieurs facteurs de risque de transmission interhumaine sont établis. Tout d'abord, le jeune âge (< 5 ans), vraisemblablement en lien avec un défaut des pratiques d'hygiène de base chez les jeunes enfants, la durée du portage digestif, et la contamination possible de l'environnement par les excréta lors du change des couches. Ensuite viennent des facteurs liés à l'environnement tels que le regroupement d'individus à risque de développer la maladie et de transmettre l'infection (foyer familial avec enfants, collectivité de jeunes enfants, maison de retraite, établissements pour des personnes avec un handicap mental), le nettoyage insuffisant de l'environnement (des matériels partagés, sanitaires,...), un ratio personnel-enfants/résidents/patients insuffisant, ou encore la présence de sujets symptomatiques dans la collectivité.

3. Diagnostic d'une infection à EHEC

Le diagnostic des infections à EHEC est difficile (EHEC < 10² UFC/g de selles). Il repose sur la détection directe à partir des selles ou d'écouvillonnage rectal et/ou après culture, des principaux gènes de virulence des EHEC (*stx* et *eae*) et, en cas de SHU, sur la mise en évidence d'anticorps spécifiques anti-lipopolysaccharide (anti-LPS). Les détails de ce diagnostic sont présentés dans cette même revue dans l'article de P Mariani *et al.*

4. La problématique du traitement antibiotique

Les gènes codant les shigatoxines sont des gènes prophagiques intégrés dans le génome des EHEC. Le plus souvent, la transcription des gènes prophagiques est réprimée

et les toxines ne sont pas produites. Dans certaines conditions de stress (en particulier, en cas d'exposition des bactéries à des antibiotiques qui interagissent avec l'ADN comme les fluoroquinolones et le cotrimoxazole), la transcription des gènes prophagiques est activée et conduit à la production de shigatoxines.

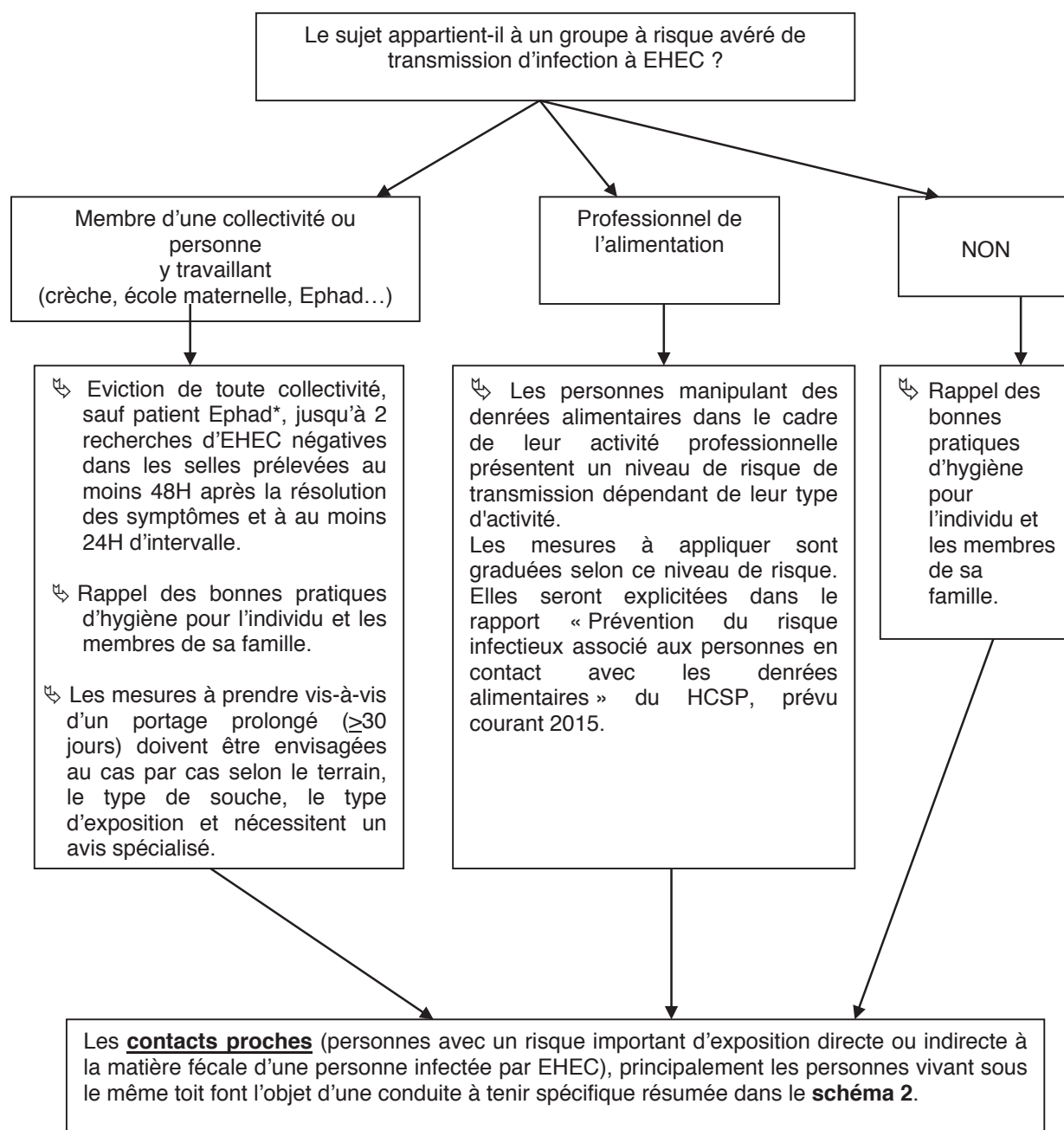
Des études *in vitro* ont montré d'une part que l'exposition de souches d'*E. coli* O157:H7 à des concentrations sub-inhibitrices de certains antibiotiques (en particulier les fluoroquinolones) peut déclencher la production de shigatoxines, et d'autre part que l'azithromycine (antibiotique inhibant la synthèse protéique) présente des propriétés immuno-modulatrices intrinsèques et inhibe la production de TNF- α , IL-6 et IL-1 β par les monocytes en présence de shigatoxine [8, 9]. Des études *in vivo* ont confirmé ces données. Par exemple, l'infection à EHEC O157:H7 du porcelet nouveau-né montre une aggravation des lésions neurologiques en présence de ciprofloxacine, et à l'inverse un effet neuroprotecteur et une diminution de la mortalité avec l'azithromycine. Pour les autres antibiotiques, les données *in vitro* ou *in vivo* ne permettent pas de statuer sur un effet bénéfique ou délétère (résultats contradictoires) [10]. Deux méta-analyses ont tenté sans succès d'évaluer le risque de survenue de SHU au décours d'un traitement antibiotique administré au stade de la diarrhée à EHEC. Toutefois, l'épidémie de colite et de SHU à *E. coli* O104:H4 survenue en 2011 en Allemagne a montré 1-une diminution de la durée du portage intestinal d'*E. coli* O104:H4 pour les patients traités avec l'azithromycine, et 2- un effet bénéfique du traitement ciprofloxacine + méropénème \pm rifaximine (fréquence plus faible de convulsions, mortalité plus faible, durée moyenne plus courte de portage de *E. coli* dans le groupe traité par rapport aux contrôles) [11]. Au final, aujourd'hui, la question n'est pas entièrement résolue. Des essais contrôlés prospectifs supplémentaires sont nécessaires pour savoir si l'azithromycine est bénéfique ou délétère chez les patients atteints d'infection à *E. coli* O157:H7. La recommandation de ne pas prescrire d'antibiotiques au stade de la diarrhée à EHEC a donc été maintenue. Des publications récentes faisant état de décès cardiovasculaires sous azithromycine, et le risque d'allongement de l'intervalle QT sous azithromycine amènent à recommander la réalisation d'un ECG avant traitement et en cours de traitement, et de rechercher des marqueurs d'ischémie myocardique qui contre-indiqueraient le traitement (troponine, échocardiographie).

5. Conduite à tenir pour prévenir la transmission interhumaine dans l'entourage d'un cas isolé et pour la gestion de cas groupés en collectivités

5.1. Mesures d'hygiène pour limiter la transmission interhumaine

Le rôle des excréta des sujets porteurs est prépondérant dans la transmission interhumaine. Au moment des soins prodigués aux sujets porteurs (en particulier au cours

Figure 1 – Règles d'éviction et d'hygiène pour un cas symptomatique isolé d'infection à EHEC.



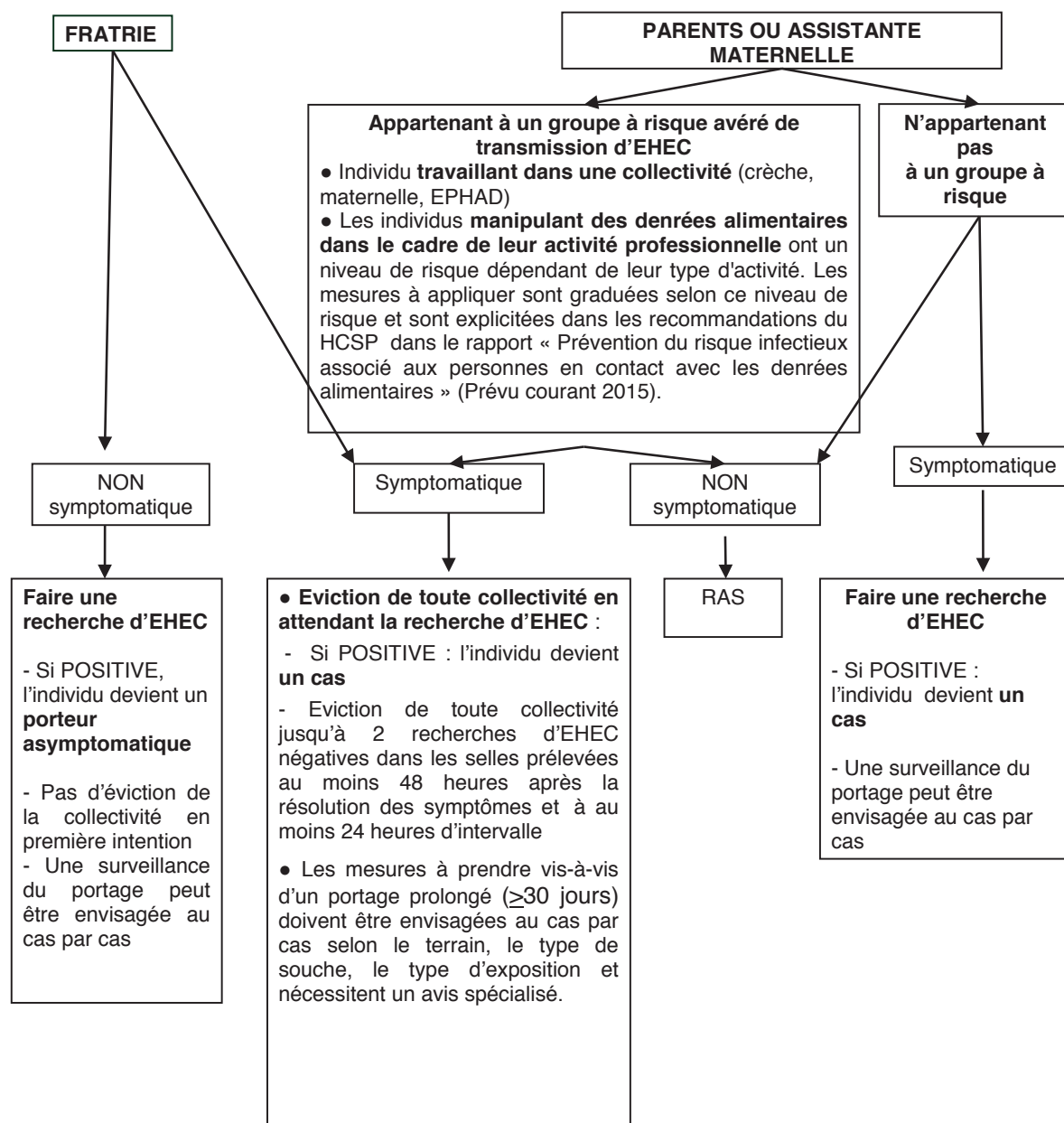
* Se référer aux recommandations du HCSP du 29/01/2010 : « Recommandations relatives aux conduites à tenir devant des gastro-entérites aiguës en établissement d'hébergement pour personnes âgées ».

Figure 2 – Conduite à tenir pour les contacts proches d'un cas symptomatique isolé de gastroentérite à EHEC.

Définition de contact proche : une personne avec un risque important d'exposition directe ou indirecte à la matière fécale d'une personne infectée par EHEC, soit : les **MEMBRES DE LA FAMILLE** (sous le même toit) ou **ASSISTANTE MATERNELLE** (ou équivalent)

DANS TOUS LES CAS

- **Rappel des bonnes pratiques d'hygiène**
- **Surveillance de l'apparition des signes de gastroentérite aiguë (GEA)**



D'après le rapport du HCSP – <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=494>

Figure 3 – Conduite à tenir en cas de cas groupés de gastroentérite à EHEC.

DANS TOUS LES CAS

- **Rappel des bonnes pratiques d'hygiène**
- **Surveillance de l'apparition des signes de gastroentérite aiguë (GEA)**

Survenue d'un deuxième cas

- **Evaluation et renforcement des mesures d'hygiène dans la collectivité**
- **Surveillance de l'apparition de signes de GEA chez d'autres enfants ou membres du personnel de la collectivité**
- **Recherche d'EHEC chez les individus symptomatiques**
- **Eviction immédiate des individus symptomatiques en attendant le résultat de la recherche d'EHEC**

POSITIVE

- Eviction de la collectivité, sauf patient Ephad*, jusqu'à 2 recherches d'EHEC négatives dans les selles prélevées au moins 48 heures après la résolution des symptômes et à au moins 24 heures d'intervalle.
- Les mesures à prendre vis-à-vis d'un portage prolongé (≥ 30 jours) doivent être envisagées au cas par cas selon le terrain, le type de souche, le type d'exposition et nécessitent un avis spécialisé.

NEGATIVE

Réintégration

Si malgré l'application des mesures indiquées ci-dessus, un troisième cas survient :

- le **dépistage des infections à EHEC dans l'ensemble de la collectivité** doit être proposé ;
- la **fermeture de la structure peut être envisagée** afin de faciliter le bionettoyage et de donner du temps au personnel pour s'approprier les mesures d'hygiène renforcées.

*Se référer aux recommandations du HCSP du 29/01/2010 : « Recommandations relatives aux conduites à tenir devant des gastro-entérites aiguës en établissement d'hébergement pour personnes âgées ».

des changes et de la toilette) et lors de la gestion de leurs excréta (élimination des excréta, manipulation et nettoyage des dispositifs souillés), un défaut d'hygiène de base pourra être à l'origine de la contamination des mains et de l'environnement, constituant une source potentielle de transmission croisée. Le foyer familial, les collectivités de jeunes enfants, et celles regroupant des sujets âgés incontinents urinaires/fécaux (comme les EHPAD en particulier), sont de fait les lieux de vie dans lesquels les facteurs de risque d'acquisition et de diffusion épidémique des pathogènes entériques comme les EHEC, seront les plus élevés.

Les colibacilles ne présentent pas de caractéristiques particulières de résistance mais peuvent survivre quelques jours dans l'environnement, tout particulièrement en présence de salissures (protéines). Les surfaces souillées constituent alors un réservoir potentiel de germes. Les mesures d'hygiène de base (en particulier, le nettoyage des locaux et des objets partagés) minimisent les conséquences de la diffusion des micro-organismes à partir des sujets porteurs et permettent de limiter la transmission interhumaine.

Dans l'entourage d'un cas, les recommandations sont de renforcer :

- **En milieu strictement familial,**
 - 1- l'hygiène des mains (pour le cas, en particulier après le passage aux toilettes, et pour l'entourage, après les soins prodigués au cas),
 - 2- l'hygiène corporelle,
 - 3- l'entretien de l'environnement (salle de bains, chambre) et du linge.
- **En collectivité de type crèche, école, Ehpad...**
 - 1- l'hygiène des mains (pour les cas, les professionnels en contact en charge des soins et/ou de la gestion des excréta),
 - 2- la protection de la tenue lors des soins potentiellement mouillant/souillant (surblouse à usage unique étanche),
 - 3- l'hygiène corporelle,
 - 4- l'entretien de l'environnement (locaux communs, chambre, toilettes), des objets partagés et du linge.
- **En établissement de santé**, l'hospitalisation d'un sujet porteur impose l'application des Précautions Complémentaires Contact (hospitalisation en chambre individuelle si possible, identification du portage (porte de la chambre, dossier du patient), application stricte des précautions standards (hygiène des mains renforcée, protection de la tenue en cas de soins potentiellement mouillant/souillant (tablier à usage unique étanche), regroupement et non-interruption des soins). L'entretien de l'environnement et du linge doit être renforcé (nettoyage et désinfection de la chambre au moins quotidien). L'utilisation de dispositifs à usage unique doit être privilégiée pour la gestion des excréta (urinal, bassin type carebag) ou à défaut, les dispositifs souillés doivent être vidangés, nettoyés et désinfectés dans un local adapté (utilisation de douchette à proscrire).
- **En situation de cas groupés en collectivités**, il est recommandé de réaliser un état des lieux de la gestion des excréta, et un nettoyage complet de l'environnement de la (des) collectivité(s). La fermeture temporaire de la collectivité peut faciliter la mise en œuvre des

mesures de nettoyage (la réouverture n'est en aucun cas conditionnée par un contrôle microbiologique de l'environnement). L'application des mesures d'hygiène et d'entretien (décrites plus haut) doit faire l'objet d'une vérification régulière. En établissement de santé : le regroupement géographique des patients porteurs pourra être décidé par l'équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) en fonction de la situation pour faciliter la mise en place des mesures d'hygiène.

5.2. Dépistage des porteurs

Au cours d'une investigation, le dépistage des porteurs contribue à l'analyse épidémiologique, à l'évaluation du risque de transmission interhumaine et à la décision des mesures de contrôle à mettre en place (évacuation, fermeture, regroupement en cohorte). Le dépistage consiste en une recherche spécifique d'EHEC dans les selles chez des personnes asymptomatiques exposées à un risque de contamination (par ex. fratrie d'un cas, groupes d'enfants en contact avec un cas).

Les souches isolées au cours d'une investigation épidémiologique (souches isolées du/des patients symptomatiques (cas), des porteurs asymptomatiques, des aliments contaminés,...) peuvent faire l'objet d'un typage épidémiologique pour déterminer l'origine d'une épidémie et différencier les cas sporadiques des cas épidémiques. Les méthodes les plus utilisées aujourd'hui sont le sérotypage (sérotypage O et H et sérotypage moléculaire), la pulstypie, la Rep-PCR et le MLVA.

La détermination des critères guidant le choix des sujets à dépister dépend de l'épidémiologie de l'épisode. Un dépistage étendu (par ex. tous les enfants et personnels d'une crèche, et foyer familial) permettra une évaluation très précise (taux d'attaque, étendue de l'épisode, proportion de portage asymptomatique). Les recommandations en termes de dépistage sont très variables en fonction des pays. **En pratique, pour un cas isolé de gastroentérite à EHEC**, il est recommandé de dépister (1) la fratrie, et (2) les contacts proches du cas (parents, assistante maternelle,...) et qui sont symptomatiques ; et **pour ce qui concerne les cas groupés**, la recherche de portage sera effectuée dans un premier temps pour les contacts proches d'un/des cas et qui sont symptomatiques. De plus, si la survenue de nouveaux cas intervient malgré l'application des premières mesures, le dépistage pourra être proposé à l'ensemble de la collectivité. La surveillance d'un portage ne doit pas être systématique. Elle pourra être discutée au cas par cas selon le contexte épidémique en particulier si l'application d'une première série de mesures n'a pas permis de contrôler l'épidémie.

Les tests utilisés pour détecter un portage (culture microbiologique, détection moléculaire des gènes de virulence spécifiques aux EHEC, détection de la présence de shigatoxine) sont les tests diagnostiques décrits dans l'article de P Mariani et al.

5.3. Évacuation et ré-intégration des porteurs

En accord avec les guides émis par le HCSP « Conduites à tenir suite à la survenue de maladies infectieuses dans une collectivité » et « Recommandations relatives

aux conduites à tenir devant les gastroentérites aiguës en EHPAD », l'éviction est recommandée pour toute personne présentant une infection à EHEC, membre d'une collectivité (sauf résidents d'EHPAD) ou personne y travaillant (crèche, école, EHPAD,...). De plus, l'éviction est recommandée pour les individus manipulant des denrées alimentaires dans le cadre de leur activité professionnelle et qui sont symptomatiques. En effet, ces personnes appartiennent à un groupe à risque avéré de transmission d'EHEC. Ces deux recommandations sont partagées par un grand nombre de pays.

Pour ce qui concerne les porteurs d'EHEC asymptomatiques, l'éviction est le plus souvent recommandée à l'étranger. Néanmoins, l'exclusion des individus porteurs asymptomatiques de leur collectivité est très inconstante dans la gestion des épidémies rapportées dans la littérature, et l'intérêt de l'éviction des porteurs asymptomatiques n'est pas démontré à ce jour, ni pour la fratrie d'un cas, ni pour les parents ou les autres contacts proches (par ex. assistante maternelle). L'éviction en première intention du ou des porteurs asymptomatiques (personnels ou enfants) de la (des) collectivité(s) n'est pas nécessaire si les mesures d'hygiène sont respectées. Par contre, si de nouveaux cas surviennent en dépit de l'application des mesures préconisées, l'exclusion (le cas échéant, l'arrêt de travail) du ou des porteur(s) asymptomatique(s) peut être discutée.

En accord avec le guide émis par le HCSP « Conduites à tenir suite à la survenue de maladies infectieuses dans une collectivité », la ré-intégration des cas ayant fait l'objet d'une éviction nécessite 2 recherches d'EHEC négatives (absence de bactéries cultivables ou PCR négative pour le gène de virulence *stx*). Les recommandations précisent que les selles doivent être prélevées au moins 48 heures après la résolution des symptômes et à au moins 24 heures d'intervalle.

Ces recommandations sont partagées par un grand nombre de pays. En cas de portage prolongé (> 30 jours), les mesures pourront être envisagées au cas par cas selon le terrain et les caractéristiques de la souche (avis spécialisé). La mise en œuvre des mesures de contrôle autour d'un cas et dans le cadre de la gestion de cas groupés d'infections à EHEC en collectivité (dépistage, éviction, contrôles) peut être difficile. Les difficultés socio-économiques potentielles pour les familles et les structures doivent être considérées. Il est important de veiller à ce que les mesures préconisées soient applicables et adaptées au contexte.

6. Conclusion

Les recommandations sont présentées sous forme de trois schémas synthétiques (annexe 2 du document du HCSP) reprenant respectivement les règles d'éviction et d'hygiène pour un cas symptomatique isolé d'infection à EHEC (figure 1), la conduite à tenir pour les contacts proches d'un cas symptomatique isolé de gastroentérite à EHEC (figure 2) et la conduite à tenir en cas de cas groupés de gastroentérite à EHEC (figure 3).

L'amélioration du diagnostic et du traitement des gastroentérites à EHEC est un enjeu important : elle devrait permettre de limiter la survenue d'une part des SHU, et d'autre part celle des cas groupés par la mise en œuvre de mesures d'hygiène simples autour des cas de gastroentérites. Le HCSP estime qu'il est nécessaire de mettre en place un réseau de surveillance des gastroentérites à EHEC et de suivi de cette cohorte.

Les recommandations seront réévaluées régulièrement.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Tillaut H, King L. Cas groupés d'infections à *E. coli* entérohémorragique O111 dans une crèche du Morbihan. Novembre 2012-janvier 2013. Saint-Maurice, Institut de veille sanitaire 2014, 20 p.; disponible sur www.invs.sante.fr
- [2] Rapport du Haut Conseil de Santé Publique du 23 janvier 2015 pour la prévention de la transmission interhumaine dans l'entourage d'un cas isolé et pour la gestion de cas groupés en collectivités <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=494>.
- [3] Rangel JM, Sparling PH, Crowe C et al. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 603-9. Disponible sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3320345/pdf/04-0739.pdf>.
- [4] Heuvelink AE, Van de Kar NC, Van Der Velden TJ et al. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection in household members of children with hemolytic-uremic syndrome in The Netherlands. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 709-14.
- [5] Lopez EL, Diaz M, Devoto S et al. Evidence of infection with organisms producing Shiga-like toxins in household contacts of children with the hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 1991; 10: 20-4
- [6] Desai M, Crawley-Boevey E, Verlander NQ, Brock A, Fraser G, Wade J, et al. Factors associated with prolonged *Escherichia coli* O157 infection in a school outbreak. *Public Health* 2013; 127: 582-85.
- [7] Gilbert M, Monk C, Wang H et al. Screening policies for daycare attendees: lessons learned from an outbreak of *E. coli* O157:H7 in a daycare in Waterloo, Ontario. *Can J Public Health* 2008; 99: 281-85
- [8] McGannon CM, Fuller CA, Weiss AA. Different classes of antibiotics differentially influence shiga toxin production. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54(9): 3790-98. doi: 10.1128/AAC.01783-09. Epub 2010 Jun 28. Disponible sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2935008/pdf/1783-09.pdf>
- [9] Ohara T, Kojio S, Taneike I, et al. Effects of azithromycin on shiga toxin production by *Escherichia coli* and subsequent host inflammatory response. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 3478-83. Disponible sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC128727/pdf/0289.pdf>
- [10] Rahal EA, Kazzi N, Nassar FJ et al. *Escherichia coli* O157:H7-Clinical aspects and novel treatment approaches. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 138. Disponible sur <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3498739/pdf/fcimb-02-00138.pdf>
- [11] Vonberg RP, Höhle M, Aepfelbacher M, et al. Duration of fecal shedding of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 in patients infected during the 2011 outbreak in Germany: a multicenter study. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1132-40. Disponible sur <http://cid.oxfordjournals.org/content/56/8/1132.full.pdf+html>

Escherichia coli sécréteur de bêta-lactamase à spectre élargi, quelles mesures faut-il prendre pour maîtriser le risque ?

Delphine Hilliquin^a, Wayne Lambert^a, Clément Legeay^a, Jean-Ralph Zahar^{a,b,d}, Isabelle Grall^c

RÉSUMÉ

L'endémie d'entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) que nous vivons actuellement est liée à la diffusion d'un mécanisme de résistance plasmidique au sein des entérobactéries et particulièrement l'espèce *Escherichia coli*. Cette situation épidémiologique nécessite un niveau d'observance élevé des précautions standards et une maîtrise de la prescription antibiotique. D'autres mesures complémentaires peuvent être justifiées de par les données épidémiologiques locales. Lutter contre la diffusion de ce mécanisme de résistance est une priorité dans la mesure où sa diffusion fait le lit de la diffusion des Entérobactéries productrices de carbapénémase.

Antibiothérapie - BLSE - *E. coli* - Précautions complémentaires.

SUMMARY

Expended spectrum betalactamase producing *E coli*, what steps should you take to control the risk?

We are living an endemic situation related to the spread of ESBL-producing Enterobacteriaceae. To contain this phenomena we need a high compliance to hand hygiene and standard precautions associated with an efficient control of the antibiotic consumption. However local epidemiological data could justify additional measures. Our priority should be to combat the spread of ESBL-PE, as it is the first step before spreading of Carbapenemase producing enterobacteriaceae.

Antibiotic therapy - ESBL - *E coli* - additional measures.

1. Introduction

Depuis les années 2000 nous assistons en France et dans le monde à la diffusion au sein des entérobactéries d'un mécanisme de résistance plasmidique codant pour la synthèse d'une enzyme qui lyse les principales bêta-lactamines épargnant toutefois les carbapénèmes et dans le cas de l'espèce *E. coli* les céphamycines également. La lutte contre la diffusion de ce mécanisme de résistance au sein des entérobactéries et spécifiquement de l'espèce *E. coli* est une nécessité absolue. En effet, cette espèce qui est commune à l'homme et au monde animal est la plus fréquemment associée aux infections communautaires comme celles associées aux soins. Dans ce contexte la non-maîtrise du phénomène de résistance nous expose à une augmentation du risque d'inadéquation thérapeutique à l'origine, de l'amplification de la résistance à titre collectif en cas d'utilisation excessive des molécules de

réserves (ie, carbapénèmes), mais également d'un risque individuel de décès. [1]

Les données récentes de la littérature suggèrent que la politique menée à ce jour, qui consiste à identifier le réservoir et à appliquer des mesures d'isolement (search and isolate), ne permet pas à elle seule de maîtriser le phénomène [2]. Plusieurs raisons physiopathologiques expliquent notre échec et doivent être prises en compte pour (si possible) limiter le phénomène en intra hospitalier. Nous développerons dans ce texte l'argumentaire justifiant la nécessité de changer notre gestion de cette crise.

2. Données épidémiologiques

L'épidémiologie des bêta lactamases à spectre étendu (BLSE) est étroitement liée à celle des entérobactéries, qui constituent leur réservoir privilégié. Parmi ces EBLSE, les deux espèces prédominantes sont *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. De manière plus sporadique, on retrouve les autres genres tels que *Enterobacter* sp, *Serratia* sp ou *Proteus* sp. Les bactéries saprophytes comme *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii* peuvent également être porteurs, mais plus rarement, de ce type de résistance enzymatique. La prévalence des EBLSE est en constante augmentation en France et dans le monde, elle reste toutefois variable selon les régions mais aucune n'est à ce jour épargnée [3]. En France, avant les années 2000 moins de 1 % des entérobactéries étaient sécrétrices de BLSE [4]. L'analyse des données suggérait qu'il s'agissait d'acquisition hospitalière, les patients porteurs ou infectés avaient tous préalablement séjourné en milieu de soin.

a Unité de Prévention et de Lutte Contre les Infections Nosocomiales, CHU-Angers.

b Unité Clinique de Prévention de l'Infection, GH Hôpitaux Universitaires Paris-Seine Saint-Denis, Université Paris XIII.

c Clinique du Perreux, Groupe Ramsay Générale de Santé, Champigny sur Marne.

d Unité Clinique de Prévention de l'Infection, Hôpitaux Universitaires, Paris-Seine, Saint-Denis, Université Sorbonne Paris Cité, Paris XIII

* Correspondance
jrzahar@gmail.com

article reçu le 15 février 2016, accepté le 6 avril 2016.

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

De même ce mécanisme de résistance était limité à l'espèce *K. pneumoniae* et il s'agissait dans la majeure partie des cas de souches porteuses d'enzyme de type TEM ou SHV. Dès les années 2006 les auteurs français soulignaient la diffusion de ce mécanisme de résistance au sein de l'espèce *E. coli* et en communautaire. La particularité du phénomène résidait dans le fait qu'il s'agissait de la diffusion d'une nouvelle enzyme (appelée CTX-M) et que cette dernière avait une forte homologie avec une enzyme chromosomique d'une espèce environnementale *Kluyvera ascorbata*. Enfin, une des particularités épidémiologiques était liée au fait que de nombreux patients porteurs voire quelques patients infectés n'avaient jamais rencontré les structures de soins. En 2011 les mêmes auteurs notaient une multiplication par dix de la prévalence du portage en France atteignant 6 % dans la population étudiée [5]. Dans ce même travail, Nicolas-Chanoine et collaborateurs soulignaient la difficulté d'identifier des facteurs de risque clinico-épidémiologique de portage. Ces données épidémiologiques sont d'une importance majeure dans la mesure où elles peuvent au moins en partie expliquer les difficultés que nous avons quant à la maîtrise de ce phénomène. En effet la problématique de ce mécanisme de résistance est liée avant tout à sa capacité de diffusion au sein de souches commensales du tube digestif. Actuellement les données les plus récentes de la littérature suggèrent que respectivement 70 %, 50 % et 30 % des habitants d'Asie du Sud-Est, du Moyen-Orient et d'Afrique sont porteurs de ce mécanisme de résistance [6]. De plus des données récemment confirmées suggèrent qu'un simple voyage en zone d'endémie expose à une acquisition dans 30 à 80 % des cas en fonction de la destination. De plus 20 % des personnes ayant acquis ce mécanisme de résistance en seraient porteurs 6 mois après leur retour [7]. Les BLSE sont une famille hétérogène d'enzymes bactériennes. Les gènes codant pour ces enzymes sont portées par des plasmides transférables d'une bactérie à une autre, menant à un risque épidémique de souche mais également de plasmide [8]. Elles dérivent de pénicillinases de type TEM ou SHV qui élargit leur capacité hydrolytique à la famille des céphalosporines de 3^e génération (C3G). Actuellement, l'enzyme la plus fréquemment retrouvée est de type CTX-M. Le nom CTX-M reflète l'activité hydrolytique puissante de cette bêta lactamase contre le céfotaxime. En résumé, alors qu'avant les années 2000 les BLSE concernaient essentiellement l'espèce *Klebsiella pneumoniae* et qu'elles étaient limitées au milieu hospitalier, les caractéristiques de l'endémie actuelle sont celles d'une diffusion hospitalière et communautaire au sein de toutes les espèces et particulièrement l'espèce *Escherichia coli*.

3. Comment comprendre le phénomène

Ce que nous vivons depuis une dizaine d'années en France et qui peut être décrit comme un phénomène paradoxal, au regard des succès obtenus dans la maîtrise du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) [9], peut à notre sens être largement expliqué par les particularités des espèces, du support de la résistance, et par les facteurs amplificateurs qui sont à ce jour insuffisamment maîtrisés.

Ainsi alors que les staphylocoques et les entérobactéries partagent le même réservoir (humain), il existe certaines particularités liées aux entérobactéries.

1 - le réservoir collectif est probablement différent, en effet seuls 25 % à 50 % de la population sont porteurs permanents ou intermittents de *Staphylococcus aureus*, [10] alors que 100 % de la population est porteuse d'entérobactéries. Cette différence fondamentale suggérerait que seule la moitié de la population pourrait acquérir (au moins de façon intermittente) un SARM alors que nous sommes tous exposés au risque d'acquérir une entérobactérie sécrétrice de bêta-lactamase à spectre élargi.

De plus le caractère ubiquitaire de l'espèce *E. coli* et le support plasmidique de la résistance participent à eux deux à l'ampleur du phénomène.

2 - le réservoir individuel participe aussi à la diffusion. En effet d'un point de vue quantitatif les porteurs de SARM semblent quantitativement (au moins en théorie) être moins porteurs de bactéries que les porteurs d'EBLSE. Ainsi le portage d'entérobactéries semble 1 000 à 1 000 000 supérieur à celui de *Staphylococcus aureus* [11].

3 - Le poids de la pression de sélection antibiotique semble lui aussi participer au phénomène de diffusion. En effet, nombreuses sont les études qui ont évalué le poids de l'antibiothérapie dans l'émergence de résistance. Si peu de classes antibiotiques ont été identifiées comme étant associées à l'émergence de SARM [12], cela ne semble pas être le cas pour les EBLSE. Enfin le rôle de la pression de sélection antibiotique dans la diffusion du SARM reste débattu. Dans le cas de l'endémie liée à la diffusion entérobactérienne sécrétrice de BLSE, le rôle des antibiotiques semble important à l'échelon individuel [13] comme à l'échelon collectif [14]. Dans le cas des entérobactéries, l'antibiothérapie participe activement non seulement dans l'acquisition [15-17] mais aussi probablement dans la dissémination [18].

4. Comment diffusent les agents pathogènes dans les structures de soins ?

Plusieurs facteurs participent à la diffusion des agents pathogènes dans les établissements de soins. Ils peuvent être résumés en trois parties : le réservoir, le mode de transmission et l'hôte exposé au risque. Ces trois facteurs ont des rôles distincts et ont été successivement étudiés dans la littérature.

Le réservoir collectif comme individuel a un rôle majeur dans la diffusion. Ainsi le réservoir collectif (ie, la prévalence de patients porteurs) connu sous le nom de « pression de colonisation » a été tour à tour mis en cause dans la survenue de cas secondaire dans les épidémies de bactéries multi résistantes (BMR). Ainsi dans un travail effectué en France par Merrer et collaborateurs [19] les auteurs soulignaient l'importance de la pression de colonisation dans l'acquisition secondaire de SARM en réanimation. Depuis de nombreux travaux ont souligné le rôle de la pression de colonisation dans la survenue de cas secondaires que ce soit pour *Clostridium difficile* ou *Acinetobacter baumannii* [20].

Plus récemment dans le cas des entérobactéries sécrétrices de BLSE, Kaier et collaborateurs soulignaient l'importance de ce facteur. Ainsi dans un travail rétrospectif effectué en Allemagne, les auteurs [14] mettaient en évidence en analyse multivariée le poids de la prévalence à l'admission dans l'augmentation des cas acquis de porteurs d'EBLSE dans son établissement. De plus dans ce travail les auteurs soulignaient l'existence d'une corrélation temporelle entre pression de colonisation et acquisition secondaire.

Concernant le réservoir individuel, de nombreuses études ont suggéré une corrélation entre quantité de portage d'agents pathogènes et contamination environnementale. Ainsi des études anciennes effectuées par l'équipe de Donskey [21] aux États-Unis avaient mis en évidence une corrélation entre concentration bactérienne dans les selles et contamination environnementale. Dans ce travail 83 % des prélèvements environnementaux étaient positifs en culture lorsque ces derniers étaient effectués dans l'environnement d'un patient porteur de plus de 10^4 CFU/g de selles d'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV), alors que seuls 11 % des prélèvements environnementaux étaient positifs autour des patients porteurs de moins de 10^4 CFU/g de selles. De la même façon l'équipe de Bonten [22] et collaborateurs suggérait, dans un travail prospectif, l'existence d'une corrélation entre le nombre de sites contaminés chez un patient donné et la contamination environnementale. Plus un patient donné avait de prélèvements positifs à ERV, plus la contamination environnementale était importante. La lecture des données de la littérature suggère également l'existence d'une relation chez les patients présentant une diarrhée à *C. difficile* comparativement aux porteurs asymptomatiques [23]. Il en est probablement de même chez les patients porteurs d'EBLSE même si à ce jour cela, à notre connaissance, n'a jamais encore été évalué.

5. Que faut-il donc faire pour maîtriser ce phénomène ?

Deux facteurs doivent être absolument maîtrisés et améliorés pour limiter la diffusion des EBLSE au sein des établissements de soins : a) l'hygiène des mains et b) la prescription antibiotique.

Pour maîtriser ce phénomène il semble impératif d'améliorer l'observance de l'hygiène des mains. Comme tous les agents pathogènes et particulièrement les bactéries, la transmission se fait directement (à partir du réservoir principal) ou indirectement de façon manuportée. Dans un premier travail observationnel effectué dans un hôpital universitaire à forte prévalence, nous avions suggéré que malgré une forte amélioration du niveau d'observance de l'hygiène des mains, et contrairement à la diminution des infections à SARM, nous assistions à une augmentation persistante des acquisitions de BLSE [24]. Cette première observation suggérait soit qu'il existait dans le phénomène de diffusion d'autres facteurs, non maîtrisés, que celui de l'observance de l'hygiène ou que le niveau d'observance de l'hygiène des mains atteint (dans ce travail le niveau était de 70 %) restait insuffisant au regard du réservoir. En effet le niveau d'observance de l'hygiène des mains

à atteindre, pour contrôler ce phénomène semble très élevé. Ainsi dans une étude multicentrique randomisée en cluster effectuée dans 13 réanimations européennes les auteurs mettaient en évidence qu'une observance de l'ordre de 80 % restait insuffisante pour maîtriser ce phénomène [25]. Une des explications, concernant ce résultat, secondairement discutée dans la littérature était le fait d'absence de maîtrise d'un second facteur celui de l'antibiothérapie. De nombreux travaux animaux avaient souligné préalablement l'importance de l'antibiothérapie comme facteur essentiel dans l'acquisition d'EBLSE [15,16]. Aussi toutes les études effectuées chez l'homme soulignaient l'importance de l'antibiothérapie préalable comme facteur associé à l'acquisition [26]. De plus dans une étude récente effectuée chez 300 femmes porteuses d'EBLSE, Ruppé et collaborateurs soulignaient l'importance de l'antibiothérapie dans l'amplification du réservoir individuel et donc dans la probable accentuation de la diffusion [27]. Ainsi l'abondance relative d'EBLSE dans les selles des patientes porteuses et recevant une antibiothérapie était 13 fois plus importante que l'abondance relative des femmes ne recevant pas d'antibiotiques. Les résultats de ce travail sous entendaient que l'antibiothérapie permettait une augmentation du nombre relatif d'EBLSE dans le tube digestif des porteurs et donc un risque de dissémination plus important.

D'autres facteurs, malheureusement souvent occultés, participent activement à la diffusion des EBLSE et autres BMR dans nos structures de soins, tels que la charge en soin, les sous-effectifs au sein des équipes soignantes, et les outils nécessaires à la gestion des excréments.

Le rôle de l'environnement comme réservoir intermédiaire où relais dans la diffusion reste discuté dans la littérature. Si la durée de survie des agents pathogènes et notamment des bactéries sur les surfaces contaminées semble variable [28], son rôle dans le cadre des épidémies à entérobactérie reste discuté. Il semblerait que le risque de diffusion lié à l'environnement soit faible même si non négligeable. Toutefois il existe des disparités certaines en fonction des espèces. Parmi les entérobactéries certaines espèces peuvent survivre plus longtemps dans l'environnement comparativement à d'autres. Dans un travail prospectif effectué à l'hôpital Necker Enfants-Malades, les auteurs soulignaient une augmentation du risque de contamination environnementale liée à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* [29].

6. Quelle politique et pour qui ?

Le caractère endémique des EBLSE, l'importance du phénomène en France et l'échec de la politique mise en œuvre ces dix dernières années doivent nous amener à mieux réfléchir aux mesures à prendre.

De nombreuses études [30-32] ont souligné des différences quant à la diffusion de l'espèce *E. coli* et de l'espèce *K. pneumoniae*. Dans un travail effectué en réanimation [30] par l'équipe de Nordmann et collaborateurs, les auteurs soulignaient le caractère clonal des souches de *K. pneumoniae* acquises comparativement à celles d'*E. coli*, qui elles semblaient sporadiques. Ce travail était en accord avec les données précédemment publiées par Harris et collaborateurs. En effet, dans leur travail prospectif effectué

Tableau I: précautions standard, précautions complémentaires contact dans le cadre des Bactéries Multi Résistantes (BMR).

a-Définitions des précautions standard

Hygiène des mains dans les 5 indications de l'OMS
Port de gants au contact des liquides biologiques
Port de surblouse en cas de soins mouillants ou salissants

b-Définitions des précautions complémentaires contact

Précautions standard
Chambre individuelle
Signalétique à l'entrée de la chambre

aux États-Unis en réanimation les auteurs soulignaient un risque de diffusion 5 fois plus élevé lié à l'espèce *K. pneumoniae*, comparativement à l'espèce *E. coli* [31]. De même dans deux travaux effectués en Suisse les auteurs soulignaient une différence quant au pouvoir « disséminateur » des *K. pneumoniae* [32,33]. Dans un travail comparant les hôpitaux Necker Enfants-Malades et Kremlin Bicêtre les auteurs soulignaient l'inefficacité de la politique d'isolement pour maîtriser la diffusion des *E. coli* sécréteurs de bêta lactamase à spectre élargi [34].

Toutefois ces données effectuées dans des services de courts séjour et de réanimations sont contradictoires avec celles publiées par les équipes de longs et moyens séjours [35, 36] qui suggèrent une diffusion importante dans ces structures.

Deux politiques de maîtrise sont possibles, l'une dite verticale, l'autre dite horizontale.

La politique verticale consiste à identifier le réservoir et à appliquer des mesures d'isolement complémentaires autour du réservoir identifié (**tableau I**). Cette politique de type « search and isolate » est, et a été, à l'origine de la maîtrise de la diffusion des SARM. Quant à la politique dite horizontale, elle consiste à ne pas considérer le réservoir « spécifique » mais à améliorer les précautions standards (**tableau I**) autour de tous les patients quel que soit leur statut, qu'ils soient connus porteurs/infectés ou non.

Plusieurs arguments plaident contre la politique dite verticale de type « search and isolate ». D'abord la difficulté d'identifier le réservoir. En effet le succès d'une telle politique dépend de la capacité d'identifier la majeure partie du réservoir et de la possibilité d'appliquer les mesures autour. Or dans l'endémie que nous vivons, il est important de noter que 1) seul 10 à 20 % des patients colonisés s'infectent secondairement [37] et donc seraient identifiables suite à un prélèvement clinique, de même la sensibilité du dépistage en l'absence de technique d'enrichissement ne semble que de 70 % [38]. Enfin à l'heure actuelle, du fait de la diffusion d'*E. coli* sécréteur de BLSE dans la population générale, il est impossible d'identifier les patients porteurs à l'aide de critères cliniques ou épidémiologiques. En effet nombreuses sont les études qui identifient des facteurs de risque de portage ou d'infections, toutefois ces facteurs ne concernent que les patients ayant acquis leur bactérie multi résistante en milieu hospitalier ou de soin [39]. Aucune étude à ce jour n'a permis de mettre en évidence des facteurs cliniques ou épidémiologiques permettant d'identifier parmi les

patients communautaires ceux qui seraient porteurs/infectés à *E. coli* sécréteurs de BLSE.

Les recommandations actuelles préconisent pour les patients connus porteurs ou infectés par une BLSE, une hospitalisation en chambre individuelle et l'application des précautions standard. Comparativement aux précautions standards l'hospitalisation en chambre individuelle permettrait une meilleure signalisation du patient porteur et une maîtrise de la part environnementale. Toutefois comme cela a été suggéré plus haut la majeure partie des transmissions est d'origine manuportée et s'effectue de patient à patient à travers les mains du personnel soignant, de ce fait la part environnementale dans la diffusion semble faible. De plus la prévalence du portage dans certaines populations semble élevée pouvant atteindre 15 % à 20 % des patients admis [40]. Il est donc difficile au regard de la disponibilité des chambres individuelles de répondre à cet impératif, d'où l'importance d'apporter d'autres solutions à la problématique posée. En l'absence de chambre individuelle et dans l'objectif d'augmenter l'observance des précautions standard autour des patients identifiés comme porteurs/infectés, il est possible d'effectuer un isolement technique qui consisterait à rappeler par la présence d'une signalétique au lit du patient le risque lié à la présence d'une EBLSE. En effet dans une étude française reprenant l'évaluation du respect des précautions complémentaires au contact des patients porteurs de bactéries multi résistantes, des études anciennes effectuées en France [41] suggéraient que la mise en place d'un signalement autour des patients porteurs ou infectés améliorerait le respect des précautions. Ce travail soulignait donc l'importance de la signalisation dans l'amélioration de l'observance des précautions complémentaires.

Récemment Dhar et collaborateurs [42] dans un travail incluant plus de 1 000 observations suggérait que l'isolement des patients porteurs de BMR était associé à un non-respect de la mesure essentielle qui est celle de l'observance de l'hygiène des mains. Aussi les auteurs soulignaient le risque d'inobservance de l'hygiène des mains lorsque les autres mesures associées étaient trop contraignantes. De plus de nombreuses études ont suggéré l'augmentation des événements indésirables dans la population des patients en isolement [43-45]. Enfin Derde et collaborateurs dans leur travail précédemment cité suggérait que l'isolement des patients porteurs de bactéries multi résistantes (ici définis comme Entérocoque résistant à la Vancomycine, Entérobactéries sécrétrices de bêta lactamase à spectre élargi et staphylocoque doré résistant à la méticilline) ne permettait pas de réduire l'incidence des acquisitions lorsque le niveau d'observance de l'hygiène des mains avait atteint 80 %. L'identification des patients porteurs et la mise en place de précautions complémentaires contact n'apportaient pas de bénéfices supplémentaires dans la maîtrise de la diffusion.

Au regard de ces différentes données, nous proposons une politique horizontale pour maîtriser le phénomène lié à l'endémie des EBLSE. Cette politique serait basée sur 3 piliers fondamentaux : l'observance de l'hygiène des mains, la maîtrise de la prescription antibiotique, et l'entretien de l'environnement.

1 - L'observance de l'hygiène des mains devra être basée sur l'utilisation des solutions hydro alcooliques dans les 5 indications de l'OMS et devra être accompagnée par un renforcement des évaluations au lit du malade par les équipes opérationnelles d'hygiène. Une telle politique basée sur l'accompagnement, la formation, et la rétro information instantanée a fait ses preuves permettant une augmentation de l'observance de l'hygiène des mains de 50 % à 70 % (24,25).

2 - La maîtrise de la prescription antibiotique devra être « intrusive » opérationnelle et efficiente. Elle ne peut se baser que sur l'évaluation et le contrôle des molécules choisies dans les infections documentées mais surtout dans le contrôle et la maîtrise de toutes les prescriptions antibiotiques.

3 - Enfin une attention particulière devra être donnée quant à l'entretien de l'environnement et concentrer les efforts sur certains environnements à haut risque, tels que les bassins et les locaux des lave-bassins.

7. Faut-il abandonner les mesures verticales ?

La réponse à cette question ne peut être univoque, elle dépend des données locales de chaque établissement et doivent être décidées avec les équipes mobiles locales. Quelques variables (**tableau II**) permettent d'appréhender au mieux la problématique. Concernant spécifiquement l'espèce *E. coli*, à condition que le niveau d'observance des précautions standards soit élevé, l'addition de précautions complémentaires contact ne semblent pas être nécessaires. Concernant les autres espèces (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*) la mise en place des précautions complémentaires semblent indispensables. Il nous semble intéressant d'envisager des mesures dites « à la carte » basée sur l'importance du réservoir individuel [46]. Il s'agirait de mettre en place des précautions complémentaires contact auprès des patients les plus disséminateurs et ceci quel que soit leur statut (connu ou non connu porteur/infecté par une BMR). Ainsi les précautions complémentaires seraient recommandées chez les patients porteurs de stomie, sonde urinaire, ayant un escarre, des plaies ou brûlures étendues, ou encore les patients incontinents ou présentant de selles diarrhéiques.

Tableau II : Variables permettant de choisir une politique de maîtrise des EBLSE.

	Précautions standard	Introduire les PCC1
Observance hygiène des mains	>75%	<75%
Politique de maîtrise de l'antibiothérapie	présente	absente
Consommation SHA2	élevée	basse
Incidence des BLSE acquises	basse	élevée
Incidence des BLSE dites nosocomiales acquises	basse	élevée

1 Précautions complémentaires contact (dont isolement en chambre seule)
2 Solutions hydro-alcooliques

Tableau III : moyens de maîtrise de la diffusion des entérobactéries BLSE .

Moyens indispensables
Observance de l'hygiène des mains
Observance des précautions standards
Maîtrise de l'antibiothérapie
Maîtrise de la gestion des excréta
Entretien de l'environnement
Moyens supplémentaires
Isolement en chambre individuelle
Mise en place des précautions complémentaires contacts

8. Conclusion

L'endémicité actuelle des *E. coli* BLSE nécessite un niveau de respect des précautions standards élevé. La maîtrise en milieu hospitalier ne peut se faire sans maîtrise de l'antibiothérapie. La mise en place de mesures complémentaires telles que l'isolement géographique ou technique doivent être réfléchies en fonction des données propres de l'établissement de soins (**tableau III**). Elles semblent toutefois nécessaires en cas de situation épidémique.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Marchaim D, Gottesman T, Schwartz O, et al. National multicenter study of predictors and outcomes of bacteremia upon hospital admission caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:5099-104.
- [2] Zahar JR, Poirel L, Dupont C, et al. About the usefulness of contact precautions for carriers of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *BMC Infect Dis* 2015;15:512.
- [3] European Center for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance interactive database(EARS-Net) http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/database.aspx. Accessed on septembre 1st 2015.
- [4] Goldstein FW. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. Multicentre Study Group. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19(2):112-7

- [5] Nicolas-Chanoine MH, Gruson C, Bialek-Davenet S, et al. 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(3):562-8.
- [6] Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, et al. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev* 2013 ;26(4):744-58
- [7] Tängdén T, Cars O, Melhus A., et al. Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2010 (9):3564-8.
- [8] Ruppé E. Epidemiology of expanded-spectrum beta-lactamases: The rise of CTX-M Antibiotiques 2010; 12 (3-16).
- [9] Fournier S, Brossier F, Fortineau N, et al. Long-term control of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* at the scale of a large multihospital institution: a seven-year experience. *Euro Surveill* 2012 26;17(30).

- [10] Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev 1997;10:505-20.
- [11] Mermel LA, Eells SJ, Acharya MK, et al. Quantitative analysis and molecular fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal colonization in different patient populations: a prospective, multi-center study. Infect Control Hosp Epidemiol 2010;31(6):592-7.
- [12] Weber SG, Gold HS, Hooper DC, et al. Fluoroquinolones and the risk for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients. Emerg Infect Dis 2003;9:1415-22.
- [13] Ben-Ami R, Rodríguez-Baño J, Arslan H, et al. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. Clin Infect Dis 2009;49(5):682-90.
- [14] Kaier K, Frank U, Hagist C, et al. The impact of antimicrobial drug consumption and alcohol-based hand rub use on the emergence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains: a time-series analysis. J Antimicrob Chemother 2009;63:609-14.
- [15] Donskey CJ. Antibiotic regimens and intestinal colonization with antibiotic-resistant gram-negative bacilli. Clin Infect Dis 2006;43:2:S62-9.
- [16] Stiefel U, Pultz NJ, Donskey CJ. Effect of carbapenem administration on establishment of intestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci and *Klebsiella pneumoniae* in mice. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:372-5.
- [17] Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. Clin Infect Dis 2004;39:219-26.
- [18] Tosh PK, McDonald LC. Infection control in the multidrug-resistant era: tending the human microbiome. Clin Infect Dis 2012;54:707-13.
- [19] Merrer J, Santoli F, Appéré de Vecchi C, et al. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol 2000;21(11):718-23.
- [20] Ajao AO, Harris AD, Roghmann MC, et al. Systematic review of measurement and adjustment for colonization pressure in studies of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and *Clostridium difficile* acquisition. Infect Control Hosp Epidemiol 2011;32(5):481-9.
- [21] Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. N Engl J Med 2000;343(26):1925-3.
- [22] Bonten MJ, Hayden MK, Nathan C, et al. Epidemiology of colonization of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1996 Dec 14;348(9042):1615-9.
- [23] Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, et al. Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. Clin Infect Dis 2007;45(8):992.
- [24] Zahar JR, Masse V, Watier L, et al. Is hand-rub consumption correlated with hand hygiene and rate of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE)-acquired infections? J Hosp Infect 2012;80:348-50.
- [25] Derde LP, Cooper BS, Goossens H, et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. Lancet Infect Dis 2014;14(1):31-9.
- [26] Zahar JR, Lortholary O, Martin C, et al. Addressing the challenge of extended-spectrum beta-lactamases. Curr Opin Investig Drugs 2009 Feb;10(2):172-80.
- [27] Ruppé E, Lixandru B, Cojocar R, et al. Relative fecal abundance of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains and their occurrence in urinary tract infections in women. Antimicrob Agents Chemother 2013;57:4512-7.
- [28] Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect Dis 2006 Aug 16;6:130.
- [29] Guet-Revillet H, Le Monnier A, Breton N, et al. Environmental contamination with extended-spectrum beta-lactamases: is there any difference between *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp? Am J Infect Control 2012;40(9):845-8.
- [30] Carrère A, Lassel L, Fortineau N, et al. Outbreak of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in the intensive care unit of a French hospital. Microb Drug Resist 2009;15(1):47-54.
- [31] Harris AD, Kotetishvili M, Shurland S, et al. How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* acquisition. Am J Infect Control 2007;35(2):97-101.
- [32] Hilty M, Betsch BY, Bögli-Stuber K, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. Clin Infect Dis 2012;55:967-75.
- [33] Tschudin-Sutter S, Frei R, Dangel M, et al. Rate of transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae without contact isolation. Clin Infect Dis 2012;55:1505-11.
- [34] Domenech de Cellès M, Zahar JR, Abadie V, et al. Limits of patient isolation measures to control extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: model-based analysis of clinical data in a pediatric ward. BMC Infect Dis 2013;13:187.
- [35] Adler A, Gniadkowski M, Baraniak A, et al. Transmission dynamics of ESBL-producing *Escherichia coli* clones in rehabilitation wards at a tertiary care centre. Clin Microbiol Infect 2012;18(12):E497-505.
- [36] Cochard H, Aubier B, Quentin R, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in French nursing homes: an association between high carriage rate among residents, environmental contamination, poor conformity with good hygiene practice, and putative resident-to-resident transmission. Infect Control Hosp Epidemiol 2014;35(4):384-9.
- [37] Goulenok T, Ferroni A, Bille E, et al. Risk factors for developing ESBL *E. coli*: can clinicians predict infection in patients with prior colonization? J Hosp Infect 2013;84(4):294-9.
- [38] Kluytmans-van den Bergh MF, Verhulst C, Willemsen LE, et al. Rectal Carriage of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Hospitalized Patients: Selective Preenrichment Increases Yield of Screening. J Clin Microbiol 2015;53(8):2709-12.
- [39] Tumbarello M, Trecarichi EM, Bassetti M, et al. Identifying patients harboring extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae on hospital admission: derivation and validation of a scoring system. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:3485-90.
- [40] Razazi K, Derde LP, Verachten M, et al. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. Intensive Care Med 2012;38(11):1769-78.
- [41] Venier AG, Zaro-Goni D, Pefau M, et al. Performance of hand hygiene in 214 healthcare facilities in South-Western France. J Hosp Infect 2009;71(3):280-2.
- [42] Dhar S, Marchaim D, Tansek R, et al. Contact precautions: more is not necessarily better. Infect Control Hosp Epidemiol 2014;35(3):213-21.
- [43] Zahar JR, Garrouste-Orgeas M, Vesin A, et al. Impact of contact isolation for multidrug-resistant organisms on the occurrence of medical errors and adverse events. Intensive Care Med 2013;39:2153-60.
- [44] Stelfox HT, Bates DW, Redelmeier DA. Safety of patients isolated for infection control. JAMA 2003;290(14):1899-905.
- [45] Abad C, Fearday A, Safdar N. Adverse effects of isolation in hospitalised patients: a systematic review. J Hosp Infect 2010;76(2):97-102.
- [46] Kirkland KB. Taking off the gloves: toward a less dogmatic approach to the use of contact isolation. Clin Infect Dis 2009;48:766-71.

QCM Évaluez-vous !

*Ceci est un questionnaire à choix multiples.
Par conséquent, il est possible que certaines questions
puissent bénéficier de plusieurs réponses possibles.
Dans ce cas, il s'agit de les cocher toutes.*

1 Dans quelles circonstances retrouve-t-on les ExPEC :

- ☐ A. Infections urinaires.
- ☐ B. Maladie de Crohn.
- ☐ C. Syndrome SHU.
- ☐ D. Méningites néo natales.
- ☐ E. Diarrhée des voyageurs.

2 La résistance aux fluoroquinolones, chez les souches invasives de *E coli*, était en France en 2014 entre :

- ☐ A. 0 et 15 %.
- ☐ B. 16 % et 30 %.
- ☐ C. 31 % et 50 %.
- ☐ D. 51 % et 80 %.
- ☐ E. >80%.

3 Parmi ces molécules quelle est celle qui n'est pas potentiellement produite par certaines souches de *E coli* :

- ☐ A. Colibactine.
- ☐ B. Protéine CIF.
- ☐ C. Cytotoxin necrotizing factor.
- ☐ D. Hormone de satiété.
- ☐ E. Shiga toxine.

4 Parmi ces bactéries quelle est celle qui est à l'origine de la CTXM-15 retrouvée chez les souches de *E coli* BLSE :

- ☐ A. *Klebsiella pneumoniae*.
- ☐ B. *Raoultella ornithinolytica*.
- ☐ C. *Enterobacter*.
- ☐ D. *Acinetobacter*.
- ☐ E. *Kluyvera ascorbata*.
- ☐ F. *Pseudomonas aeruginosa*.

5 La majorité des souches pathogènes extra-intestinales appartiennent au groupe phylogénétique :

- ☐ A. A.
- ☐ B. B1.
- ☐ C. B2.
- ☐ D. D.
- ☐ E. Z.

6 L'enzyme bêta-lactamase à spectre étendu, présente chez des *E. coli* commensaux la plus répandue dans le monde est :

- ☐ A. CTX-M-9.
- ☐ B. CTX-M-15.
- ☐ C. TEM-15.
- ☐ D. CTX-M-2.
- ☐ E. SHV-12.

7 Infections à EHEC : quelle sont les bonnes réponses :

- ☐ A. En cas de colite hémorragique, 90 % des patients diagnostiqués présentent une diarrhée sanglante.
- ☐ B. En cas de SHU tous les enfants de moins de 15 ans présentent une diarrhée sanglante.
- ☐ C. La période d'incubation des infections à EHEC est toujours plus longue que celle des autres diarrhées infectieuses.
- ☐ D. Le SHU constitue la première cause d'insuffisance rénale chez l'enfant de moins de 3 ans.
- ☐ E. O104 représente aujourd'hui la majorité des sérotypes responsables de SHU avec 28 % des sérotypes.

8 Concernant le diagnostic des infections à EHEC, quelles sont les bonnes réponses :

- ☐ A. Le diagnostic des infections à EHEC se fait à partir de selles recueillies dans le mois qui suit les premiers symptômes.
- ☐ B. Le diagnostic des infections à EHEC se fait par PCR sur les selles des gènes *stx* et *eae*.
- ☐ C. Le diagnostic des infections à EHEC se fait par coproculture standard.
- ☐ D. Le diagnostic des infections à EHEC nécessite un enrichissement en milieu peptoné.
- ☐ D. Le diagnostic des infections à EHEC se fait par sérodiagnostic anti LPS.

9 Les cas groupés d'infection à EHEC surviennent plus fréquemment :

- ☐ A. Dans les EPHAD.
- ☐ B. Dans les collectivités d'adultes.
- ☐ C. Dans les collectivités d'adolescents.
- ☐ D. Dans les collectivités d'enfant de < de 5 ans.

10 Dans la transmission interhumaine quels sont les 2 facteurs de risque de dissémination les plus importants ?

- ☐ A. L'hygiène des mains.
- ☐ B. La gestion des excréta.
- ☐ C. L'environnement immédiat du patient.
- ☐ D. L'utilisation de douchettes.

11 Quelles sont les propositions retrouvées dans les recommandations de la HAS ?

- ☐ A. Éviction des travailleurs symptomatiques des collectivités.
- ☐ B. Éviction des travailleurs symptomatiques touchant aux denrées alimentaires.
- ☐ C. Pas d'éviction en première intention d'un porteur asymptomatique en collectivité.
- ☐ D. Réintégration dans une collectivité d'un personnel après une selle négative.

12 Parmi les facteurs suivants, quels sont ceux qui participent à la diffusion intra hospitalière des Entéobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi ?

- ☐ A. La pression de colonisation (ie, le nombre de patients entrants colonisés/infectés à EBLSE).
- ☐ B. La pression de sélection antibiotique.
- ☐ C. Le niveau d'observance de l'hygiène des mains.
- ☐ D. La charge en soin.
- ☐ E. Tous les facteurs cités.

13 Quels sont les éléments qui justifient absolument une politique de type «chercher et isoler» dans une structure hospitalière ?

- ☐ A. Une observance faible de l'hygiène des mains
- ☐ B. Une incidence élevée des entérobactéries sécrétrices de BLSE.
- ☐ C. Une incidence élevée de *K. pneumoniae* et ou *Enterobacter* sp sécrétrices de BLSE.
- ☐ D. L'absence de politique de maîtrise de l'antibiothérapie.
- ☐ E. Aucune, la maîtrise de la diffusion des EBLSE repose sur la maîtrise des précautions standards.

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Voir en première page de la rubrique
Entreprise Labo, page 83

B. BOISSONNET / BSIP



Prévalence de *Dientamoeba fragilis* (Trichomonadida, Monocercomonadidae) au Centre hospitalier universitaire Mustapha d'Alger: aspects diagnostiques et épidémiologiques

Selma Magda Chehboub^{a,*}, Ismaïl Achir^a, Boussad Hamrioui^a

RÉSUMÉ

Dientamoeba fragilis est un protozoaire flagellé du gros intestin dont certains aspects épidémiologiques demeurent mal connus à ce jour. Afin d'évaluer sa prévalence au laboratoire de parasitologie du CHU Mustapha d'Alger et d'étudier ses caractéristiques épidémiologiques et diagnostiques, nous avons mené une étude prospective du 1^{er} janvier au 31 décembre 2012 sur une population de 2603 sujets chez lesquels nous avons pratiqué un examen parasitologique des selles, avec une coloration permanente systématique par la méthode de trichrome de Gomori modifiée par Wheatley. Un « scotch test » anal, proposé systématiquement à tous les sujets, n'a pu être réalisé que chez 513 sujets l'ayant accepté. *Dientamoeba fragilis* a été retrouvé à 228 reprises soit une prévalence de 8,76 % IC 95 % [7,62 %-9,78 %], ce qui le place en deuxième position après *Blastocystis* sp., auquel il est d'ailleurs associé dans 51,31 % des cas. Les signes cliniques les plus fréquemment retrouvés sont les flatulences/ballonement, douleur abdominale et constipation. La relation entre *Enterobius vermicularis* et *Dientamoeba fragilis* a été étudiée chez 513 sujets et laisse supposer un lien entre ces deux parasites. L'examen direct seul a donné une fréquence de *Dientamoeba fragilis* de 4,65 %, le trichrome de Wheatley l'a corrigée à 8,76 %. Enfin le traitement n'a été efficace que dans 47,61 %. Notre étude montre que *Dientamoeba fragilis* existe en Algérie, qu'il est assez fréquent, et suggère qu'il pourrait être à l'origine de troubles digestifs. Elle met en évidence la nécessité pour tous les laboratoires de coprologie parasitaire d'inclure la recherche de *Dientamoeba fragilis* dans sa pratique quotidienne, par une coloration permanente systématique.

Prévalence – *Dientamoeba fragilis* - trichrome de Wheatley.

1. Introduction

Dientamoeba fragilis (Wenyon, 1909) est un protozoaire flagellé du gros intestin. Plus d'un siècle après sa découverte, l'épidémiologie de ce parasite n'est pas encore complètement élucidée. Cosmopolite, il a été décrit dans

^a Laboratoire de parasitologie-mycologie
Centre hospitalier universitaire Mustapha
Place du 1^{er} mai 1945
Sidi M'Hamed – Alger
16000 Algérie

* Correspondance
magdanade@yahoo.fr

article accepté le 15 septembre 2016

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Prevalence of *Dientamoeba fragilis* (Trichomonadida, Monocercomonadidae) at Mustapha's University Hospital Center of Algiers: Diagnostical and epidemiological aspects

Dientamoeba fragilis is a flagellated protozoan of human large intestine with unclear epidemiology. To estimate its prevalence, we conducted a prospective study from 1st January through 31 December 2012 in which stool samples from 2603 patients were submitted to the laboratory of parasitology of Mustapha's hospital, Algiers. All stool specimens were processed with the use of direct examination, formalin-ether method of Ritchie concentration technique, and Wheatley's trichrome (modification of Gomori trichrome) stained smear. A Graham test was systematically proposed but achieved only for 513 patients. We found a prevalence of 8,76 % 95 %CI [7,62 %-9,78 %] by permanent staining (228 cases); it's the most frequent parasite after *Blastocystis* sp with which it is frequently associated (51 %). Abdominal bloating, abdominal cramping and constipation are the most common symptoms. *Enterobius vermicularis* - *Dientamoeba fragilis* coinfection was studied in 513 subjects and suggests a relationship between these two parasites. *Dientamoeba fragilis* is frequent in this study and could have potential pathogenic properties. All laboratories have to include routinely permanent staining to research this parasite.

Prevalence – *Dientamoeba fragilis* – Wheatley's trichrome stained smear.

de nombreux pays et régions du monde avec une prévalence moyenne se situant entre 0,3 et 52 % et totalement absent dans d'autres [1]. En Algérie, peu de travaux ont mentionné *Dientamoeba fragilis* : 8 cas par Guy en 1968 [2], 1 cas par Addadi en 1972 [3] et 8 cas par Tabet-Derraz en 1977 [4]. Depuis, aucune étude en coprologie parasitaire n'a rapporté de cas d'infection à *Dientamoeba fragilis*. Notre objectif est d'apporter un éclairage sur ce parasite, en estimant sa prévalence par sa recherche systématique chez tous les sujets adressés au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha d'Alger pour examen parasitologique des selles tout en soulignant ses caractéristiques diagnostiques et ses aspects épidémiologiques.

2. Matériel et méthodes

Nous avons mené une étude prospective descriptive sur une population de 2 603 sujets (1 107 femmes et 1 496 hommes) adressés au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha d'Alger sur une période allant du 1^{er} janvier au 31 décembre 2012 pour examen parasitologique des selles.

Chaque prélèvement de selle fraîchement émise a fait l'objet d'un examen macroscopique, puis d'un examen microscopique à l'état frais à partir d'une dilution fécale dans de l'eau physiologique à 9 % et après coloration au lugol double, et enfin de deux méthodes de concentration : la Ritchie simplifiée pour les kystes de protozoaires et le Kato Katz ou Willis à la recherche des œufs d'helminthes.

Encadré 1 – Confection d'un frottis de selle et coloration par la méthode de trichrome de Gomori modifiée par Wheatley.

Pour la coloration au trichrome de Gomori modifiée par Wheatley, nous avons procédé comme suit :

Colorant :

Chromotrope 2R	0,6 g
Light green SF	0,3 g
Acide phosphotungstique	0,7 g
Acide acétique (glacial)	1,0 ml
Eau distillée	100 ml

Fixateur :

Schaudinn acétique avec substitution d'une solution aqueuse de sulfate de zinc à la solution de chlorure de mercure

Solution aqueuse de sulfate de zinc	312 ml
Éthanol à 95 %	55,5 ml
Acide acétique glacial	25 ml
Glycérol	7,5 ml

- Confection du frottis : mélanger une goutte d'alginate de sodium à 1 % à une goutte de la dilution fécale sur une lame porte-objet. Étaler sur environ les deux tiers de la lame.
- Fixation : recouvrir la lame de Schaudinn acétique pendant au moins une heure (1 h) à température ambiante.
- Pré coloration : plonger la lame successivement dans deux bains d'alcool à 70° pendant 1 minute, en prenant soin d'égoutter entre chaque bain.
- Coloration : plonger le frottis fixé dans le colorant trichrome pendant 30 minutes.
- Déshydratation :
 - alcool acide acétique : plonger rapidement la lame deux fois dans ce bain
 - alcool à 95° : plonger une fois pendant 30 secondes puis égoutter
 - alcool à 95° : plonger pendant 1 minute puis égoutter
 - alcool absolu : plonger pendant 1 minute
 - xylène : plonger pendant 2-3 minutes.
- Séchage pendant 15 minutes.
- Lecture : recouvrir les frottis colorés d'une goutte d'huile à immersion surmontée d'une lamelle. Après 10 min, une deuxième goutte d'huile est déposée sur la lamelle et un minimum de 200 champs est lu à l'objectif 100.

Pour notre étude, une coloration permanente par la méthode de trichrome de Wheatley a été pratiquée systématiquement en utilisant l'alginate de sodium pour la confection des frottis et le Schaudinn acétique à base de chlorure de zinc comme fixateur (**voir encadré 1**). Un « scotch test » anal à la recherche d'œufs d'*Enterobius vermicularis* a été proposé systématiquement à tous les malades qui nous ont été adressés mais seulement 513 ont été coopérants.

Face à toute demande spécifique du praticien et souvent de notre propre initiative devant une diarrhée aqueuse et/ou un déficit immunitaire, une recherche de parasites opportunistes intestinaux a été effectuée par les colorations de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz pour les coccidies et le trichrome de Gomori modifié par Deluol et Mahoun pour les microsporidies. Une culture sur deux milieux différents, le milieu de Robinson [5] et le milieu Locke-Egg (milieu de Boeck et Drbohlav modifié par le NIH) [6] a été pratiquée pour 96 prélèvements.

Nous avons analysé nos résultats statistiquement à l'aide du logiciel R version 2.15.1 et dans Microsoft Excel 2007. Le risque d'erreur admis est de 5 %.

3. Résultats

Sur les 2 603 prélèvements analysés, nous avons retrouvé dans 922 selles positives 1 323 parasites appartenant à 18 espèces différentes soit un taux de positivité global de 35,42 %, IC à 95 % [33,6 %-37,3 %] (**tableau I**).

Tableau I – Espèces parasitaires retrouvées durant l'année 2012.

Espèces parasitaires	Nombre	Prévalence	%
<i>Blastocystis</i> sp.	471	18,09	35,60
<i>Dientamoeba fragilis</i>	228	8,76	17,23
<i>Endolimax nanus</i>	228	8,76	17,23
<i>Giardia duodenalis</i>	87	3,34	6,57
<i>Entamoeba coli</i>	86	3,3	6,50
<i>Entamoeba hartmanni</i>	45	1,72	3,40
<i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i>	38	1,45	2,87
<i>Pseudolimax butschlii</i>	13	0,49	0,98
<i>Chilomastix mesnili</i>	8	0,3	0,6
<i>Cryptosporidium</i> sp.	5	0,19	0,37
<i>Trichomonas intestinalis</i>	3	0,11	0,22
<i>Enteromonas hominis</i>	2		0,15
<i>Isospora belli</i>	1		
<i>Enterobius vermicularis</i>	100	3,84	7,55
<i>Taenia saginata</i>	4	0,15	
<i>Hymenolepis nanus</i>	2		0,15
<i>Trichuris trichiura</i>	1		
Œufs d'ankylostomides	1		
Total	1 323		100

Tableau II – Caractéristiques épidémiologiques de *Dientamoeba fragilis* retrouvé durant l'année 2012 au CHU Mustapha d'Alger.

<i>Dientamoeba fragilis</i>		228/2603	8,76 %	IC ⁹⁵ % [7,62 - 9,78]	
Sexe	Masculin	121/1 496	8,08 %	[6,7-9,5]	p = 0,159
	Féminin	107/1 107	9,66 %	[7,9-11,4]	
Groupes d'âge	0-5 ans	24/380	6,31 %	[3,9-8,8]	p = 0,113
	6-15ans	29/275	10,54 %	[6,9-14,2]	
	> 15 ans	172/1 848	9,30 %	[8-10,6]	
Parasites associés	<i>Blastocystis</i> sp.	117	51,31 %		
	<i>Endolimax nanus</i>	36			
	<i>Entamoeba coli</i>	14			
	<i>Enterobius vermicularis</i>	11			
	<i>Giardia duodenalis</i>	10			
Fréquence saisonnière	Hiver	97/790	12,27 %	[10-14,6]	p = 7,8210 ⁻⁶
	Printemps	35/734	4,76 %	[3,2-6,3]	
	Été	12/215	5,58 %	[2,5-8,6]	
	Automne	75/875	8,75 %	[6,9-10,6]	

Dientamoeba fragilis a été retrouvé dans 228 selles. Sa prévalence dans la population globale est de 8,76 %, IC à 95 % [7,62 %-9,78 %], ce qui le place en 2^e position des parasites intestinaux isolés au laboratoire de para-

sitologie du CHU Mustapha durant l'année 2012, après *Blastocystis* sp. (18,09 %) (**tableau I**). Il a été retrouvé seul à 78 reprises (34,21 %) et plus souvent associé à d'autres parasites (65,79 %), notamment à *Blastocystis* sp. (51,31 %). L'association avec *Enterobius vermicularis* a été retrouvée 11 fois (**tableau II**).

Dientamoeba fragilis a été isolé chez 121 hommes et 107 femmes (p = 0,159) (**tableau II**) âgés de 14 mois à 74 ans avec une moyenne d'âge de 33 ans et une médiane de 31 ans. Nos résultats ne retrouvent pas de différence entre catégories d'âges 0-5 ans (6,31 %), 6-15 ans (10,54 %) et ≥ 15 ans (9,30 %) (**tableau II**).

Dientamoeba fragilis est plus fréquemment retrouvé en hiver et serait plus rare au printemps (p = 7,82 10⁻⁶). Chez les 78 sujets porteurs de *Dientamoeba fragilis* seul, plus de la moitié avait des selles macroscopiquement molles et 69 % d'entre eux étaient symptomatiques. Les signes cliniques majoritairement retrouvés sont respectivement : flatulences et ballonnement abdominal, douleurs et constipation (**tableau III**).

L'apport de la coloration permanente est mis en relief : le trichrome de Wheatley a doublé le nombre de *Dientamoeba fragilis* diagnostiqués par l'examen direct soit une fréquence de 8,76 % (**tableau IV**).

Tableau III – Aspects macroscopiques des selles et signes cliniques retrouvés chez les sujets à *Dientamoeba fragilis* seul.

<i>Dientamoeba fragilis</i> seul	n = 78	
Aspect des selles		
Normales	18	23 %
Molles	47	60 %
Dures	4	05 %
Liquides	3	3,84 %
Glaireuses	3	3,84 %
Semi-liquides	3	3,84 %
Symptomatologie		
Asymptomatique	24	30,77 %
Symptomatiques	54	69,23 %
Flatulences	30	38,46 %
Douleurs abdominales	27	34,61 %
Constipation	20	25,64 %
Amaigrissement	18	23,07 %
Diarrhée	17	21,8 %
Nausées	14	17,95 %
Prurit	13	16,6 %
Vomissements	10	12,82 %

Tableau IV – Apport du trichrome de Wheatley.

	ED positif	ED négatif	Total
TW positif	120	107	227
TW négatif	1	2375	2376
Total	121	2482	2603

ED : examen direct, TW : trichrome de Wheatley.

Tableau V – Résultats comparés de l'examen direct, du trichrome et des cultures sur 96 selles.

	Examen direct	Trichrome	Locke-Egg	Robinson
1	-	+	-	-
2	-	-	+	-
3	+	+	+++	+
4	+	+	+	++
5	+	+	+	++
6	+	+	++	++
7	+	+	+	++
8	+	+	+	+
9	+	+	-	-
10	+	+	++	++++
11	+	+	+	+
12	-	-	+	+
13	-	-	+	++
14	+	+	+	++
15	-	-	+	+
16	-	+	-	+
Positifs	10	12	13	13

- : négatif; + : inférieur à 1/10 champs au GX40; ++ : 1 dans 1 à 10 champs GX40; +++ : 1/champ GX40; ++++ : supérieur à 1/champ GX40.

La culture sur milieu de Robinson et le milieu Locke-Egg réalisée sur 96 selles a été positive à 13 reprises pour chaque milieu (**tableau V**).

Sur les 31 patients porteurs de *Dientamoeba fragilis* que nous avons pu contrôler après traitement, le metronidazole prescrit 21 fois a été coprologiquement efficace chez 10 sujets.

4. Discussion

Dientamoeba fragilis est un protozoaire flagellé, du gros intestin, observé pour la 1^{re} fois en 1909 par Wenyon [7, 8] mais c'est en 1918 que Jepps et Dobell en font la première description [8].

Longtemps négligé, il connaît un regain d'intérêt en raison de son rôle pathogène et de sa probable implication dans le syndrome du côlon irritable [9-11].

Il s'agit d'un flagellé de la famille des Trichomonadidae qui ne se présente que sous forme végétative pouvant être ronde ou ovale, parfois amiboïde et dont la taille varie de 5 à 15 µm. Majoritairement binucléées, certaines formes peuvent contenir un seul noyau voire 3, 4 ou même 5 noyaux [11, 12]. Le cytoplasme granuleux peut renfermer des vacuoles digestives, inclusions, levures et bactéries. C'est un parasite cosmopolite dont la prévalence varie de 0,3 % à 52 % selon les différentes études [1]; cette variation peut s'expliquer par l'utilisation de techniques diagnostiques différentes, ou encore par la diversité des populations cibles [1]. La précarité ne semble pas constituer

un facteur de risque suffisant en raison de sa présence aussi bien dans les pays développés que les pays à faible niveau d'hygiène [1].

Notre étude a concerné 2603 sujets qui ont été adressés au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha, du 1^{er} janvier 2012 au 31 décembre 2012, pour un examen parasitologique des selles (EPS).

Nous avons retrouvé une fréquence globale des parasites intestinaux de 35,42 % proche de celles retrouvées habituellement au même service sur la population générale entre 1999 et 2002.

La prévalence de *Dientamoeba fragilis* dans notre étude est de 8,76 %, IC 95 % [7,62 %-9,78 %]. En Algérie, il n'a été mentionné qu'à trois reprises, 8 cas en 1968 [2], 1 cas en 1972 [3], 8 cas en 1977 [4].

Selon les études, il serait un des parasites les plus fréquents, dépassant *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* [10,13-15] et *Giardia duodenalis* [13, 14, 16].

Plusieurs études suggèrent que *Dientamoeba fragilis* serait plus fréquent chez les femmes que chez les hommes [9, 17] alors que certains auteurs tels que Stark en Australie en 2010 [13] et Jimenez au Venezuela en 2010 [18], ne retrouvent aucune différence entre les sexes.

Dans notre étude, il n'y a pas de différence entre les hommes et les femmes infestés par *Dientamoeba fragilis* ($p = 0,159$). Kean et Malloch en 1966 [7] ou encore Crotti et D'Annibale en Italie [9, 16] trouvent que *Dientamoeba fragilis* est plus fréquent chez les adultes que chez les jeunes enfants. À l'inverse, De Wit *et coll.* en Hollande retrouvent plus *Dientamoeba fragilis* dans les selles d'enfants âgés de 5 à 14 ans [19], et Girginkardesler *et coll.* en Turquie rapportent une incidence plus élevée chez les enfants âgés de 8 à 15 ans [20]. D'autres enfin notent une prévalence plus élevée chez les 16-20 ans [21]. Pour notre part, nous n'avons pas retrouvé de différence entre les différentes catégories d'âge de notre population d'étude ($p = 0,113$) (**tableau II**).

L'analyse de la distribution saisonnière de *Dientamoeba fragilis* montre que sa fréquence est plus élevée en hiver ($p = 7,82$ 10-6) alors que Ayadi *et coll.* trouvent ce parasite plus souvent en été [22] et Grendon au printemps et en été [23].

Le mode de contamination n'est pas encore élucidé; l'hypothèse selon laquelle *Dientamoeba fragilis* serait transmis par les œufs d'*Enterobius vermicularis* par similitude à *Histomonas meleagridis*, flagellé agent d'entéropathies aiguës graves chez la dinde transmis par les œufs d'un nématode *Heterakis gallinae* [24], a été confortée par l'isolement d'ADN de *Dientamoeba fragilis* à l'intérieur même des œufs d'oxyures [25, 26]. Plus récemment une forme kystique a été décrite chez des souris de laboratoire suite à leur inoculation par des souches humaines de *Dientamoeba fragilis*, renforçant l'hypothèse d'une transmission kystique féco-orale [27]. Pour étayer l'une ou l'autre, voire ces deux hypothèses de modes de contamination différents de *Dientamoeba fragilis*, ces deux observations doivent être confirmées par des études expérimentales prouvant le caractère viable des kystes retrouvés chez les souris infestées et des formes de *Dientamoeba fragilis* isolés d'œufs d'*Enterobius vermicularis*, par infestation expérimentale ou mise en culture.

Tableau VI – Relation oxyurose - dientamoebiose.

	Df positif	Df négatif	Total
Ev positif	11	40	51
Ev négatif	43	419	462
Total	54	459	513

Ev: *Enterobius vermicularis*, Df: *Dientamoeba fragilis*.
RR = 2, 318 [1,277- 4,205].

Dans notre étude, le lien entre les deux parasites est mis en évidence ($p = 0,0067$), $RR = 2,318$ [1,277-4,205]. Chez les 513 sujets ayant accepté le « scotch test » de Graham, 51 étaient porteurs d'*Enterobius vermicularis* et 54 de *Dientamoeba fragilis*. 11 co-infections *Enterobius vermicularis*/*Dientamoeba fragilis* ont été notées (tableau VI).

Chez les sujets à « scotch test » positif, 21,56 % étaient porteurs de *Dientamoeba fragilis* contre 9,30 % chez les sujets à « scotch test » négatif (tableau VI).

Les associations parasitaires sont fréquemment décrites : 51,31 % des sujets infectés par *Dientamoeba fragilis* l'étaient également par *Blastocystis* sp., ces deux parasites sont d'ailleurs souvent associés entre eux d'une part et au syndrome du côlon irritable d'autre part [9-11].

D'autres associations à *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*, *Endolimax nanus* et *Giardia duodenalis* ont également été rapportées, laissant supposer que tous ces parasites ont un même mode de transmission.

Depuis sa description par Jepps et Dobell comme un commensal rare sur la base de sa présence chez des sujets asymptomatiques, les avis concernant le rôle pathogène possible de *Dientamoeba fragilis* ont longtemps été controversés.

Mais les études les plus récentes [9, 10, 13, 14, 16, 21, 24] le décrivent comme cause d'inconfort et l'associent au syndrome du côlon irritable. Il n'existe qu'une seule espèce pour le genre *Dientamoeba* mais dotée d'une diversité génétique prouvée par l'existence de deux génotypes différents (le génotype 1 plus fréquent que le génotype 2); cette diversité pourrait expliquer l'existence de porteurs asymptomatiques [24, 28, 29].

Dans notre étude, sur l'ensemble des 228 porteurs de *Dientamoeba fragilis*, 78 n'étaient affectés que par ce parasite; 54 d'entre eux soit 69 % présentaient des signes cliniques et 24 étaient asymptomatiques. Ces signes cliniques sont essentiellement digestifs à type de flatulences/ballonement, douleurs abdominales, constipation et diarrhée (tableau III). De plus, l'analyse de l'aspect macroscopique des selles de ces 78 patients révèle que seulement le quart avait une

selle normale (23,07 %) alors que plus de la moitié avait des selles de consistance molle (60 %) et le reste des patients avait des selles liquides ou glaireuses.

Ces deux observations laissent supposer un potentiel pathogène possible pour *Dientamoeba fragilis*.

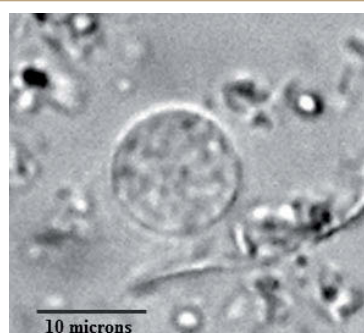
L'une des raisons de la sous-estimation de la prévalence de *Dientamoeba fragilis*, voire l'absence de ce parasite dans bon nombre d'études, est sa difficulté diagnostique. Tout au long de notre étude, nous avons pu noter que l'utilisation de l'examen microscopique direct à l'état frais (figure 1) et au lugol (figure 2) seule reste délicate car sujette à des erreurs par défaut. *Dientamoeba fragilis* peut être confondu avec les globules blancs même si l'examen est effectué dès l'émission de la selle. Ses noyaux n'étant pas visibles, il apparaît très souvent comme une forme arrondie avec des ébauches de prolongements cytoplasmiques à peine distinguables, un cytoplasme granuleux et des vacuoles. Il peut être pris pour *Blastocystis* sp. lorsque l'examen est différé et que les formes s'arrondissent et se figent. Une vacuole se forme, repousse les noyaux vers la périphérie rendant la confusion alors fréquente. La dilution de la selle dans l'eau du robinet est une pratique qui détruit également *Dientamoeba fragilis*. Seules les formes avec prolongements cytoplasmiques caractéristiques, en ailes de ventilateurs ou diamétralement opposés, permettent de suspecter fortement *Dientamoeba fragilis*.

La méthode de concentration de Ritchie simplifiée (formol-éther) détruit également *Dientamoeba fragilis* et n'est donc guère indiquée. Le diagnostic de la dientamoebiose est beaucoup plus aisé par l'utilisation des techniques de colorations permanentes, qui permettent d'objectiver les noyaux caractéristiques de ce parasite.

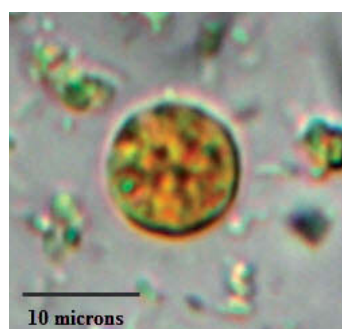
Elles devraient donc être pratiquées systématiquement en coprologie parasitaire. La coloration de Heidenhein à l'hématoxyline ferrique, de Kohn au noir chlorazol et de Wheatley au trichrome sont les plus utilisées. Cette dernière nous semble particulièrement intéressante. Nous l'avons pratiquée systématiquement dans notre étude.

En 1999, un taux de 5,5 % a été retrouvé en Tunisie dans une étude rétrospective sur examen direct sans coloration permanente [22]. Dans notre étude, la fréquence de *Dientamoeba fragilis* diagnostiqués uniquement à l'examen direct est de 4,65 %.

La coloration par le trichrome de Wheatley, plus sensible, a corrigé le taux de *Dientamoeba fragilis* à 8,76 % (tableau IV). Elle nous a également permis de faire a posteriori la distinction entre leucocytes, *Blastocystis* sp. et *Dientamoeba fragilis* (figure 3).

Figure 1 – Forme végétative de *Dientamoeba fragilis* à l'état frais.

Objectif 100.

Figure 2 – Forme végétative de *Dientamoeba fragilis*.

Coloration au lugol. Objectif 100.

Plus sensible est la culture, mais celle-ci n'est guère utilisée en routine. Nous n'avons pu tester que deux milieux de culture sur 96 prélèvements de selles: le Robinson et le Locke-Egg (**tableau V**). Nous avons pu maintenir en culture *Dientamoeba fragilis* (**figure 4**) en pratiquant toutes les 48 heures voire 36 heures des subcultures pendant un maximum de 15 jours (6 à 7 subcultures). Cette culture a permis de redresser un résultat faussement négatif à 4 reprises mais elle a été à son tour prise à défaut à deux reprises par le trichrome.

Le Locke-Egg et le Robinson ont donné chacun 13 résultats positifs avec toutefois un avantage pour le milieu de Robinson où *Dientamoeba fragilis* y était plus abondant.

En considérant un total cumulé de positifs de 16, l'examen direct a donné 62,5 % de positifs, le trichrome 75 %, le Locke-Egg 81,25 % et le Robinson 81,25 %.

Peu de temps après la première description de *Dientamoeba fragilis* en 1918, des travaux ont été entrepris concernant le traitement. À travers les résultats des différentes études menées depuis, certaines molécules paraissent particulièrement intéressantes affichant une efficacité relativement élevée. Bien qu'il n'y ait aucun consensus concernant la prise en charge thérapeutique de l'infection, le CDC d'Atlanta propose l'iodoquinol, actuellement considéré comme la molécule de choix dans le traitement de la dientamoebiose avec 100 % d'efficacité [13, 30]. La paromomycine utilisée dans le traitement de la cryptosporidiose a également montré une efficacité appréciable nettement supérieure à celle du métronidazole. Sur les 228 patients porteurs de *Dientamoeba fragilis* de notre étude, nous n'avons pu effectuer un examen parasitologique de contrôle que sur

27 d'entre eux. Le métronidazole a été prescrit 21 fois, à une dose moyenne de 750 mg par jour pendant au moins 10 jours, et n'a été coprologiquement efficace que chez 10 sujets soit à 47,61 % avec néanmoins disparition de leurs signes cliniques.

5. Conclusion

Dientamoeba fragilis est un flagellé du gros intestin qui suscite de plus en plus l'intérêt en raison de son rôle pathogène possible.

Il s'agit de la première estimation de sa prévalence en Algérie. Notre étude trouve qu'il est assez fréquent au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha d'Alger, qu'il touche sans différence les deux sexes, et tous les âges. Malgré l'association fréquente à d'autres parasites et l'existence de porteurs asymptomatiques, l'aspect macroscopique anormal de plus de la moitié des porteurs de *Dientamoeba fragilis* seul, la présence de signes cliniques digestifs souvent multiples chez plus des deux tiers d'entre eux et cédant après traitement spécifique constatés dans notre étude, plaident en faveur de ce potentiel pathogène.

Les laboratoires de coprologie parasitaire devraient inclure la recherche de *Dientamoeba fragilis* dans leur pratique quotidienne; pour cela une coloration permanente devrait être systématiquement réalisée pour tout examen parasitologique des selles.

Enfin en l'absence de pathogène

associé, *Dientamoeba fragilis*, signalé au praticien, devra être traité.

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Figure 3 – Forme végétative de *Dientamoeba fragilis*.



Coloration au trichrome de Wheatley. Objectif 100.

Figure 4 – Forme végétative de *Dientamoeba fragilis* contenant des grains d'amidon.



Culture sur milieu de Robinson. Objectif 100.

Références

- [1] Barratt JL, Barratt TT, Harkness J, et al. The ambiguous life of *Dientamoeba fragilis*: the need to investigate current hypotheses on transmission. *Parasitology* 2011;138:557-72.
- [2] Guy Y, Addadi K, Le Corroller Y, et al. Bilan des parasitoses intestinales en Algérie en 1966 et 1967 et déductions de nature statistique. *Bull Soc Pathol Exo Filiales* 1968;61(3):468-79.
- [3] Addadi K, Le Corroller Y, Guy Y, et al. Sur le rôle pathogène possible de «*Dientamoeba fragilis*». *Bull Soc Pathol Exo* 1972;65 (2):274-5.
- [4] Tabet-Derraz O, Belkaid M. Bilan des parasitoses rencontrées dans l'Algérois (Années 1971 à 1975). *Bull Soc Pathol Exo Filiales* 1977;70(1):58-64.
- [5] Robinson GL. The laboratory diagnosis of human parasitic amoebae, *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1968;62:285-94.
- [6] Von Brand T, Rees CR, Jacobs L, et al. Studies on reducing substances and gas formation in cultures of *Entamoeba histolytica* and a single species of symbiotic bacterium. *Am J Hyg* 1943;37:310-9.

- [7] Kean BH, Malloch CL. The neglected Ameba: *Dientamoeba fragilis*. *New Series* 1966;II:9.
- [8] Jepps MW, Dobell C. *Dientamoeba fragilis*: a new intestinal amoeba from man. *Parasitology* 1918;10(3):352-67.
- [9] Crotti D, D'Annibale ML. Role of *Dientamoeba fragilis* in human bowel infections. *Infez Med* 2007;15:30-9.
- [10] Yakoob J, Jafri W, Beg MA, et al. *Blastocystis hominis* and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. *Parasitol Res* 2010;107:679-84.
- [11] Banik GR, Birch D, Stark D, et al. A microscopic description and ultrastructural characterization of *Dientamoeba fragilis*: An emerging cause of human enteric disease. *International J Parasitol* 2012;42: 139-53.
- [12] Dobell C. The Amoebae living in man. *A zoological monograph. J Parasitol* 1920;6(4):202-3.
- [13] Stark D, Barratt J, Roberts T, et al. A review of the clinical presentation of Dientamoebiasis. *Am J Trop Med Hyg* 2010b;82: 614-9.

- [14] Vandenberg O, Peek R, Souayah H, et al. Clinical and microbiology features of Dientamoebiasis in patients suspected of suffering from a parasitic gastrointestinal illness: a comparison of *Dientamoeba fragilis* and *Giardia lamblia* infections. *Int J Infect Dis* 2006;10(3):255-6.
- [15] Barratt JLN, Harkness J, Marriott D, et al. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans. Several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes* 2011;2:3-12.
- [16] Crotti D, D'annibale ML, Fonzo G, et al. *Dientamoeba fragilis* is more prevalent than *Giardia duodenalis* in children and adults attending a day care centre in Central Italy. *Parasite* 2005;12:165-70.
- [17] Girginkardesler N, Kurt Ö, Kilimcioglu AA, et al. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: Evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*. *Parasitol Int* 2007;57:72-5.
- [18] Jimenez S, Cortez J, Diaz M, et al. Prevalence of *Dientamoeba fragilis* among individuals from asymptomatic North Central Venezuela. *Int J Infect Dis* 2010;14(1):295-6.
- [19] De Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, et al. Etiology of gastroenteritis in sentinel general practices in the Netherlands. *Clin Microbiol Infect* 2001;9:65-8.
- [20] Girginkardesler N, Coskun S, Cuneit Balcioglu I, et al. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with Secnidazole. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:110-3.
- [21] Lagacé-Wiens PR, VanCaeseele PG, Koschik C. *Dientamoeba fragilis*: an emerging role in intestinal diseases. *CMAJ* 2006;175(5):468.
- [22] Ayadi A, Bahri I. *Dientamoeba fragilis*: flagelle pathogène ? *Bull Soc Pathol Exot* 1999;92(5):299-301.
- [23] Grendon JH, DiGiacomo RF, Frost FJ. Descriptive features of *Dientamoeba fragilis* infections. *J Trop Med Hyg* 1995;98:309-15.
- [24] Johnson EH, Windsor JJ, Clark GC. Emerging from obscurity: biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*; *Clin Microbiol.Rev* 2004;17:553-70.
- [25] Röser D, Nejsum P, Carlsgart AJ, et al. DNA of *Dientamoeba fragilis* detected within surface-sterilized eggs of *Enterobius vermicularis*. *Exp Parasitol* 2013;33(1):57-61.
- [26] Ögren J, Dienus O, Löfgren S, et al. *Dientamoeba fragilis* DNA detection in *Enterobius vermicularis* eggs. *Pathogens Dis* 2013;69:157-8.
- [27] Munasinghe VS, Vella NG, Ellis JT, et al. Cyst formation and faecal-oral transmission of *Dientamoeba fragilis*--the missing link in the life cycle of an emerging pathogen. *Int J Parasitol* 2013;43(11):879-83.
- [28] Peek R, Reedeker FR, van Gool T. Direct amplification and genotyping of *Dientamoeba fragilis* from human stool specimens. *J Clin Microbiol* 2004;42:631-5.
- [29] Stark JD, Beebe N, Marriott D, et al. Dientamoebiasis: clinical importance and recent advances. *Trends Parasitol* 2006;22(2):92-6.
- [30] Nagata N, Marriott D, Harkness J, et al. Current treatment options for *Dientamoeba fragilis* infection. *Int J Parasitol Drugs and Drug Resistance* 2012;2:204-15.

Infection maternelle à Parvovirus B19 et anémie fœtale

Coralie Dumont^a, Michel Segondy^b, Pierre Boulot^a, Vincent Foulongne^b

1. Introduction

Le parvovirus B19 est, comme le suggère son nom, un tout petit virus à ADN responsable d'une maladie éruptive bénigne de la petite enfance, le mégalérythème épidémique ou 5^e maladie. Ce virus a été identifié pour la première fois en 1975 dans une poche de don de sang portant les références B19 [1]. Dans la famille des *Parvoviridae*, qui inclue de nombreux virus animaux, le parvovirus B19 est le seul représentant humain du genre *Erythrovirus* pathogène pour l'homme.

La caractéristique singulière de ce virus est son tropisme pour les précurseurs de la lignée érythrocytaire exprimant à leur surface l'antigène de groupe P qui est le récepteur du virus. Ce tropisme pour la lignée rouge se manifeste par la survenue d'anémies transitoires et modérées lors de la primo-infection par le virus. Cette atteinte érythrocytaire peut conduire également à des anémies chroniques chez des patients immunodéprimés et des crises d'érythroblastopénies aiguës chez des patients présentant des pathologies du globule rouge comme une drépanocytose par exemple [2]. Enfin, en cas de primo-infection maternelle, l'atteinte centrale de l'érythropoïèse fœtale peut entraîner une anémie fœtale profonde [3]. Des arthropathies, surviennent très fréquemment lors de l'infection chez l'adulte et peuvent persister jusqu'à plusieurs mois après la primo-infection, leur physiopathologie relève d'un mécanisme immunologique post-infectieux. Enfin des cas de myocardites ont été décrits.

Le virus circule activement dans les communautés de jeunes enfants avec de petites épidémies printanières, sa transmission est essentiellement aérienne. Lors de la primo-infection la virémie est généralement fugace avec une séroconversion qui assure une clairance virale et une protection durable. On constate toutefois dans un très faible

pourcentage de la population, la persistance d'une virémie en dépit d'une séroconversion, les conséquences de cette infection chronique étant à ce jour assez mal connues. À l'âge adulte, environ 50 % à 60 % de la population présentent une immunité durable et protectrice [4].

2. Cas clinique

Au décours du suivi obstétrical pour une seconde grossesse chez une jeune femme de 32 ans, une ascite fœtale est détectée lors d'une échographie réalisée à 16 semaines d'aménorrhée (SA). Cette maman est alors confiée au centre référent en obstétrique du CHU de Montpellier pour une surveillance. Le contrôle réalisé à 17SA confirme une ascite modérée avec de plus une petite lame d'épanchement péricardique. La mesure de la vitesse de l'artère cérébrale moyenne (ACM) est normale. Un bilan sérologique réalisé alors révèle une immunité acquise pour le cytomégalovirus et la présence d'IgM anti-parvovirus B19, pouvant laisser suspecter une primo-infection récente. L'association de cette ascite fœtale avec une probable infection maternelle à parvovirus B19 conduit les cliniciens à proposer une surveillance resserrée de cette gestation. À 19 SA, l'épanchement péricardique est stable ainsi que l'ascite mais une augmentation de la vitesse ACM est observée à 39 cm/s soit 1,56 MoM (*Multiple over Median*), cette valeur étant normalement toujours inférieure à 1,50 MoM. La semaine suivante (20SA), une légère amélioration est constatée et la vitesse ACM diminue à 1,38 MoM. Par contre à 24 SA, une nette majoration de l'ascite (**figure 1**) et une accélération du doppler cérébral avec une vitesse ACM à 2,00 MoM sont observées.

Devant, ces résultats évocateurs d'une anémie fœtale majorée, la patiente est hospitalisée et une transfusion *in utero* (TIU) est programmée le lendemain. Au bloc obstétrical, 25 ml sont transfusés et pendant le geste, du sang fœtal pour numération formule sanguine et du liquide amniotique pour caryotype et recherche virale sont prélevés. Le sang fœtal confirme une anémie sévère avec 3,1 g/L d'hémoglobine et une réaction érythroblastique importante. Sur le liquide amniotique la recherche de l'ADN du parvovirus B19 par PCR est positive avec une charge virale importante (> 7 Log copies/mL) permettant de confirmer l'étiologie de l'anémie fœtale. La correction de l'anémie fœtale n'est alors que partielle et une seconde TIU de 40 mL est réalisée à 27 SA. À 32 SA, l'ascite est en diminution et la vitesse ACM se normalise à 1,16 MoM. Une IRM fœtale cérébrale est également réalisée pour exclure une lésion cérébrale et les signaux sont normaux sans aucune anomalie morphologique ni biométrique à signaler. La grossesse est ensuite menée à son terme sans complication pour un accouchement à 41 SA.

a Pôle mère enfant,

Département de Gynécologie-Obstétrique
CHU de Montpellier, Montpellier

b Pôle Biologie Pathologie

Laboratoire de Virologie
CHU de Montpellier Saint-Éloi
80, avenue Augustin Fliche - 34295 Montpellier Cedex 5

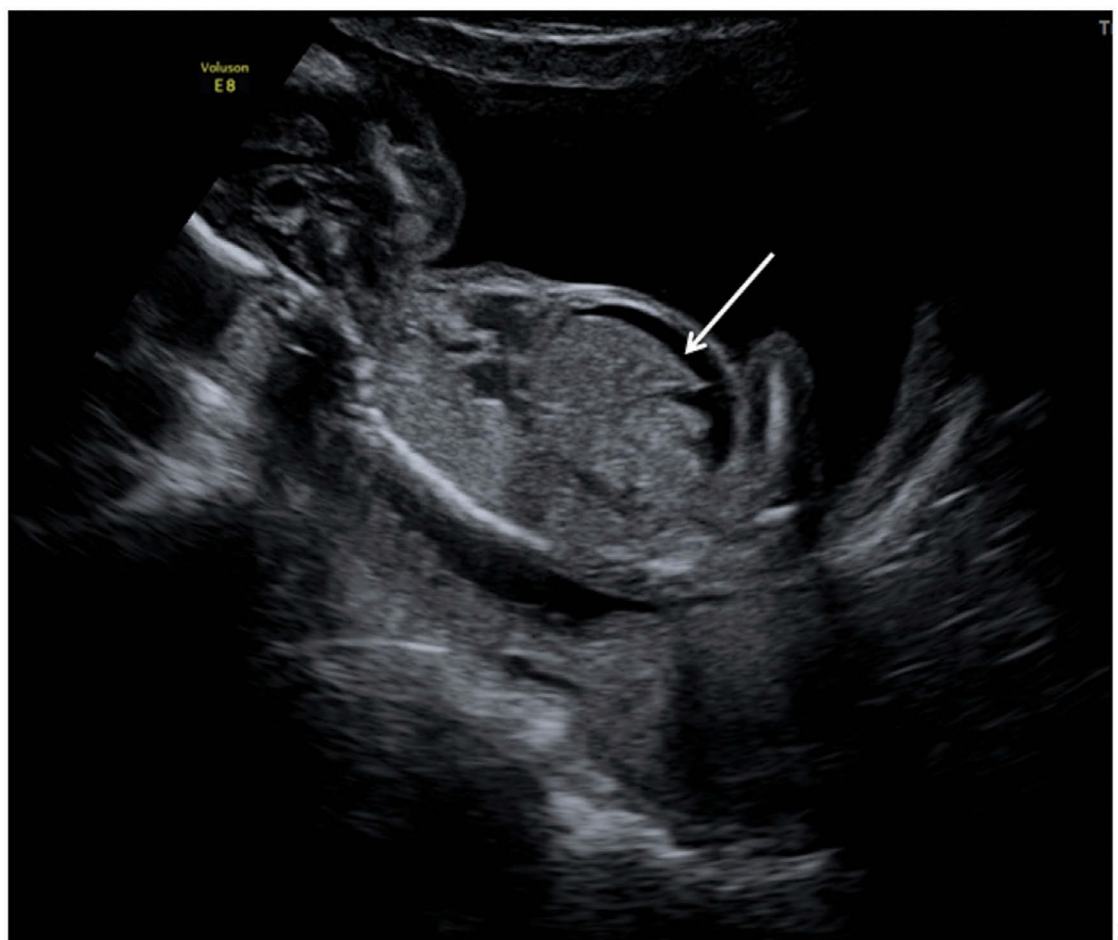
Correspondance

v-foulongne@chu-montpellier.fr

article reçu le 4 avril 2016, accepté le 15 avril 2016

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1 – Image échographique à 24 SA : Ascite fœtale majorée (flèche blanche).



L'examen clinique de l'enfant est strictement normal et son hémogramme montre une anémie modérée avec une réticulocytose. La PCR parvovirus dans le sérum de l'enfant est positive à la naissance mais le suivi à plus long terme de l'enfant ne décèle aucune anomalie.

3. Discussion

L'anémie fœtale reste une pathologie rare mais avec toutefois un pronostic qui peut rester réservé en raison des lésions fœtales neurologiques induites par l'anoxie, d'une anasarque fœtale ou encore de la mort fœtale. Les étiologies principales sont les allo-immunisations érythrocytaires et également les infections materno-fœtales par le CMV ou le parvovirus B19. Les hémorragies fœto-maternelles ou d'exceptionnelles formes d'hémoglobinopathies fœtales sont des causes plus rares. Le diagnostic d'une anémie fœtale est le plus souvent évoqué devant des signes d'ascite fœtale révélés par échographie. Désormais des techniques non invasives de mesure par écho-doppler du débit de l'artère cérébrale moyenne permettent de faire un diagnostic avec une excellente sensibilité, la vélocité sanguine étant augmentée en raison d'une fluidité accrue du sang fœtal en cas d'anémie. L'accélération de la vitesse

dans l'ACM est significativement corrélée à une baisse du taux d'hémoglobine fœtale [5].

Le risque d'acquisition d'une infection par le parvovirus B19 se situe entre 1 à 3 % des femmes séronégatives en âge de procréer [6]. Ce risque augmente chez les mères d'enfants en âge préscolaire et scolaire ainsi bien sûr que chez les femmes en contact professionnel avec de jeunes enfants. Le taux de transmission de l'infection au parvovirus B19 au fœtus est de 15 % à 30 % selon les études [7]. La plupart des infections fœtales au parvovirus B19 sont sans conséquence et se résolvent spontanément. Les complications principales restent l'avortement spontané et l'anasarque fœto-placentaire [8].

L'anasarque foeto-placentaire qui se traduit par un œdème généralisé accompagné d'épanchements (pleural, ascite) chez le fœtus est une conséquence de l'anémie fœtale qui entraîne une insuffisance cardiaque avec hypoxie et augmentation de la perméabilité capillaire. De plus, l'hématopoïèse foetale étant essentiellement hépatique, la production intense d'érythroblastes par le foie peut avoir des retentissements sur la fonction hépatique entraînant une hypoalbuminémie et une hypertension portale [9]. Une suspicion d'anasarque résultant d'une primo-infection à parvovirus B19 doit conduire à une surveillance échographique et doppler rapprochée, le plus souvent hebdomadaire [10].

Le diagnostic de certitude ne peut se faire que par la détection génomique du parvovirus B19 sur sang fœtal ou liquide amniotique par PCR. Celui-ci ne sera donc réalisé que si l'on pratique une amniocentèse pour des indications fœtales. Les charges virales sont généralement très importantes dans le liquide amniotique en raison d'une forte excrétion virale par le fœtus infecté. Les sérologies fœtales n'ont que peu d'intérêt surtout si les ponctions sont réalisées avant 22SA. Le traitement de l'anasarque fœtale passe par la correction de l'anémie, en ayant recours à des transfusions *in utero* (TIU) [9]. Ces dernières sont réalisées le plus souvent au-delà de 20 SA sous guidage échographique par voie funiculaire. Le sang sera le plus souvent concentré avec un hématoctrite élevé pour limiter les volumes transfusionnels, déleucocyté, de groupe O RhD négatif et strictement compatible avec le phénotype maternel (Kell, Jka...) pour éviter une éventuelle sur-immunisation maternelle. Ce geste invasif présente un risque de mort fœtale située entre 1,5 à 3 %. Les TIU permettent une régression la plus souvent complète des signes d'anasarques, toutefois pour exclure d'éventuelles lésions cérébrales notamment à type de dilatation ventriculaire, une IRM fœtale est généralement proposée à 32 SA [10].

4. Conclusion

Le diagnostic d'une infection à Parvovirus B19 chez une femme enceinte peut être évoqué lors de la survenue de signes cliniques, lors d'une notion d'exposition et de contagion et le plus souvent par la découverte fortuite lors de l'examen échographique de signes d'anasarque. Dans tous les cas, cela conduit à une surveillance hebdomadaire de l'évolution de l'anasarque pendant 6 à 12 semaines dans un centre de diagnostic prénatal. Si l'abstention thérapeutique est la règle, une évolution défavorable de l'anasarque peut toutefois être avantageusement traitée par transfusion intra-utérine jusqu'à correction de l'anémie fœtale et donc de l'anasarque.

À ce jour, aucune recommandation de dépistage sérologique n'est proposée, en effet cela se justifie par l'absence de traitement de l'infection documentée chez la mère et par la détection aisée et précoce des premiers signes d'anasarque par échographie. Des conseils simples d'hygiène peuvent être rappelés aux femmes les plus exposées qui travaillent et vivent au contact de jeunes enfants.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Cossart YE, Field AM, Cant B, et al. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet* 1975;i:72-73.
- [2] Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
- [3] Crane J, Mundle W, Boucoiran I; Maternal Fetal Medicine Committee, et al. Parvovirus B19 infection in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can*. 2014;36(12):1107-1116.
- [4] Mossong J, Hens N, Friederichs V, et al. Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. *Epidemiol Infect*. 2008;136:1059-1068.
- [5] Carbonne B, Castaigne-Meary V, Cynaber E et al. Intérêt pratique du pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne dans la prise en charge des allo-immunisations sévères. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2008;37:163-169.
- [6] Cartter ML, Farley TA, Rosengren S, et al. Occupational risk factors for infection with parvovirus B19 among pregnant women. *J Infect Dis*. 1991;163:282-285.
- [7] Dijkmans AC, de Jong EP, Dijkmans BA, et al. Parvovirus B19 in pregnancy: prenatal diagnosis and management of fetal complications. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2012;24:95-101.
- [8] Macé G, Sauvan M, Castaigne V, et al. Clinical presentation and outcome of 20 fetuses with parvovirus B19 infection complicated by severe anemia and/or fetal hydrops. *Prenat Diagn*. 2014;34:1023-1030.
- [9] Bousquet F, Segondy M, Faure JM et al. B19 parvovirus-induced fetal hydrops: good outcome after intrauterine blood transfusion at 18 weeks of gestation. *Fetal Diagn Ther* 2000;15: 132-133.
- [10] Schild RL, Bald R, Plath H, et al. Intrauterine management of fetal parvovirus B19 infection. *Ultrasound Obstet. Gynecol*. 1999;13: 161-166.

DESCRIPTIF

M. E, 59 ans, est admis aux Urgences pour l'aggravation d'une dyspnée et l'apparition de douleurs thoraciques gauches. Ce patient, atteint d'une sarcoïdose médiastino-pulmonaire depuis 1990, est traité par corticoïdes au long cours. La radiographie thoracique met en évidence un épanchement pleural gauche enkysté de faible abondance et l'examen biologique un syndrome inflammatoire (CRP = 104 mg/L ; hyperleucocytose à 11,5 G/L).

Une ponction pleurale est réalisée ramenant un liquide citrin trouble (pH = 7,15 ; protéines = 45 g/L ; LDH = 975 UI/L) avec une importante réaction cellulaire à polynucléaires neutrophiles. Au laboratoire de Bactériologie, l'examen direct du liquide pleural ne retrouve pas de bactéries (coloration de Gram et de Ziehl-Neelsen). Après 48h d'incubation, le milieu liquide BACTEC™ MGIT™ 960 (Becton Dickinson) pour la recherche de mycobactérie est détecté positif. L'examen direct à partir du flacon révèle des coccobacilles à Gram positif (*figure 1*). Après 72 h d'incubation, la culture sur gélose au sang permet l'observation de colonies muqueuses irrégulières rosées (*figure 2*).

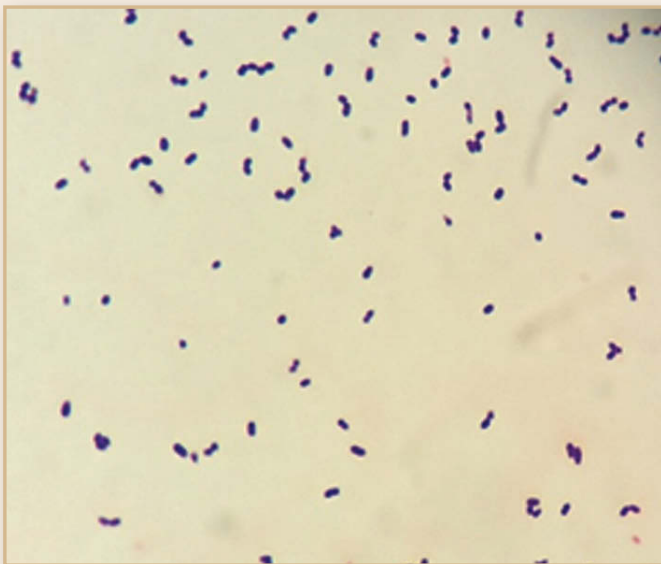


Figure 1 : Examen direct à partir du milieu de culture BACTEC™ MGIT™ 960 (coloration de Gram, objectif 100).

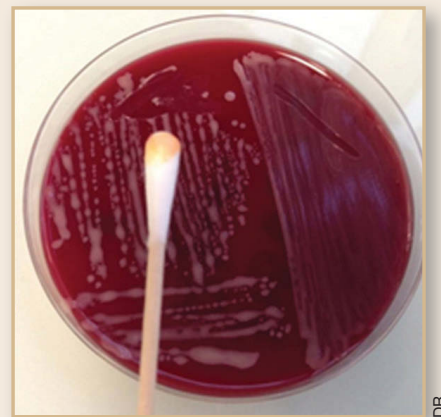


Figure 2 : Aspect des colonies bactériennes en culture sur gélose au sang après 72h d'incubation sous CO₂.

QUESTIONS

1. Quelles informations vous apportent l'examen biochimique du liquide pleural ?
2. Devant ce tableau clinico-biologique, quelle bactérie pouvez-vous suspecter ?
3. Quelles sont les caractéristiques microbiologiques de cette bactérie ?
4. Quelle est l'origine probable de la contamination ?
5. Quelle sera la prise en charge thérapeutique ?

RÉPONSES AU VERSO



a Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière-CHU de Nantes
Institut de Biologie
9, quai Moncousu, 44093 Nantes Cedex 1

Correspondance
guillaume.aubin@chu-nantes.fr

Leslie Bouard^a, Aurélie Guillouzouic^a, Jocelyne Caillon^a,
Didier Lepelletier^a, Stéphane Corvec^a, Pascale Bémer^a,
Guillaume Aubin^{a,*}

© 2016 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

RÉPONSES

R1

Il s'agit d'un épanchement pleural de type exsudatif en raison d'un passage de liquide à travers une membrane altérée inflammatoire devenue perméable. Cette information oriente vers une pathologie néoplasique ou une infection. La présence à l'examen direct de nombreux polynucléaires neutrophiles doit faire évoquer une pleurésie purulente (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Diagnostic différentiel entre un transsudat et un exsudat (critères de Light)

	Transsudat	Exsudat
Aspect macroscopique	Jaune citrin Transparent	Jaune foncé Opaque, sérofibrineux ; sérohématique, purulent ± débris, ± fétide
Coagulation	Absente	Fréquente
pH	> 7,20	< 7,20
Protéines	< 30 g/L	≥ 30 g/L
LDH	< 200 UI/L	>200 UI/L

R2

Chez ce patient immunodéprimé, la présence de coccobacilles à Gram positif aérobies et la mise en évidence de colonies muqueuses, irrégulières et pigmentées en rose/saumon font évoquer la présence de *Rhodococcus equi*. L'identification

de cette bactérie par spectrométrie de masse (Vitek MS®, bioMérieux) a été confirmée par séquençage partiel du gène codant pour l'ARNr 16S.

R3

R. equi, anciennement *Corynebacterium equi*, est un coccobacille à Gram positif polymorphe. Il peut prendre une forme coccoïde, en milieu solide ou dans les tissus, ou la forme d'un long bacille voire d'un court filament, en milieu liquide non enrichi. C'est une bactérie aérobies stricte, non mobile, asporulée et intracellulaire facultative (survivant dans les macrophages). Cette bactérie non

exigeante, se cultive sur milieux ordinaires où elle forme des colonies muqueuses, irrégulières, se pigmentant en rose/saumon parfois au bout de 4 à 7 jours. *R. equi* est catalase, uréase, lipase positives et oxydase négative. Cette bactérie peut être confondue avec une corynébactérie, un *Bacillus* ou une mycobactérie en raison de la présence d'acides mycoliques dans sa paroi.

R4

Zoonose très connue du monde vétérinaire, *R. equi* est responsable de pneumonies granulomateuses mortelles chez les jeunes poulains, qui l'excrètent en grande quantité dans leurs fèces. Cette bactérie est retrouvée à des concentrations élevées dans le sol des exploitations agricoles. L'acquisition chez l'immu-

nodéprimé se ferait principalement par inhalation d'aérosols contaminés ou de poussières. D'autres localisations cliniques sont décrites (nodules sous-cutanés, abcès cérébraux...) survenant notamment chez l'immunocompétent, par inoculation directe lors d'un traumatisme ou lors de surinfections de plaie.

R5

Le traitement initial repose sur une association de deux ou trois antibiotiques par voie parentérale, en raison de l'émergence de mutants résistants, suivi d'un relai *per os*. Le traitement recommandé comprend la vancomycine et/ou l'imipénème suivi d'un relai par ciprofloxacine, rifampicine et/ou azithromycine (activité intracellulaire). La durée du traitement est variable selon la localisation, le type d'infection et le terrain du patient, de 10 semaines chez un sujet immunocompétent à plus de 6 mois chez un sujet immunodéprimé. Un traitement chirurgical

d'exérèse est souvent associé. Le suivi clinique et radiologique des patients est indispensable pour prévenir des rechutes généralement fréquentes.

La souche isolée chez Mr E. étant résistante au cotrimoxazole, aux fluoroquinolones et aux macrolides, le traitement initialement prescrit (amoxicilline/acide clavulanique) a été adapté à la documentation bactériologique au profit d'une bi-antibiothérapie composée de rifampicine et de linézolide pendant 4 mois. Ce traitement a permis la guérison complète du patient sans séquelles.

Pour en savoir plus

[1] Kedlaya I, Ing MB, Wong SS. *Rhodococcus equi* infections in immunocompetent hosts: case report and review. Clin Infect Dis 2001; 32: E39-46.

[2] Weinstock DM, Brown AE. *Rhodococcus equi*: an emerging pathogen. Clin Infect Dis 2002; 34: 1379-85.

[3] Yamshchikov A, Schuetz A, Marshall Lyon G. *Rhodococcus equi* infection. Lancet Infect Dis 2010; 10:350-359.

[4] Nordmann P, Chavanet P, Caillon J, Duez JM, Portier H. Recurrent pneumonia due to rifampicin-resistant *Rhodococcus equi* in a patient infected with HIV. J Infect. 1992 Jan; 24(1):104-7.

DROIT DES CONTRATS

Réforme du droit des contrats

Nous continuons notre étude de l'ordonnance réécrivant les dispositions du Code civil relatives au droit des contrats, au régime général et à la preuve des obligations* commencée dans RFL n° 482.

Entrée en vigueur

Les nouvelles mesures s'appliqueront à tous les contrats conclus à compter du 1^{er} octobre 2016.

Application de la loi dans le temps

Les contrats conclus avant cette date demeureront soumis à la loi ancienne. Toutefois, les mesures instaurant des « actions interrogatoires » seront applicables le 1^{er} octobre 2016 à ces contrats :

- la première action est celle ouverte au tiers envisageant de conclure un contrat faisant l'objet d'un pacte de préférence en cours au 1^{er} octobre ; il pourra mettre en demeure le bénéficiaire du pacte d'avoir à confirmer ou non l'existence d'un pacte de préférence et son intention de s'en prévaloir ;
- la deuxième pourra être exercée par un tiers ayant un doute sur l'étendue des pouvoirs du représentant conventionnel d'un contractant pour conclure un acte ; il pourra demander au représenté de lui confirmer que le représentant est habilité à conclure cet acte ;
- la troisième, enfin, est ouverte à une partie à un contrat ; si son cocontractant peut se prévaloir de la nullité du contrat, elle pourra lui demander soit de confirmer le contrat soit d'agir en nullité dans un délai de six mois à peine de forclusion.

Nouveaux principes directeurs relatifs au contrat

Même si la plupart des nouvelles dispositions introduites dans le Code civil, régissant le contrat et les obligations, sont supplétives de volonté et peuvent donc être écartées par les parties, un certain nombre d'entre elles, généralement issues de la jurisprudence ou de textes spécifiques, sont érigées au rang de dispositions d'ordre public, les parties ne pouvant donc y déroger.

À ce titre, peuvent être cités, le devoir de bonne foi, le devoir général d'information précontractuelle, étendus à la négociation et à la formation du contrat, l'interdiction de priver de sa substance l'obligation essentielle du débiteur, l'interdiction des clauses des contrats d'adhésion créant un déséquilibre significatif entre les droits et obligations des parties.

De fait, les « dispositions liminaires » posent les grands principes de la liberté contractuelle, de la force obligatoire du contrat et de la bonne foi, ces principes étant destinés à faciliter l'interprétation de l'ensemble des règles applicables au contrat et, au besoin, à en combler les lacunes. Elles visent également à proposer des définitions du contrat en général et de différents types de contrats.



© Trueffelpix/fotolia.com

La liberté contractuelle

Elle comprend la liberté de contracter ou de ne pas contracter, la liberté de choisir son cocontractant, et la liberté de déterminer le contenu et la forme du contrat.

On rappelle l'interdiction de déroger aux règles intéressant l'ordre public, sans reprendre l'interdiction de déroger aux bonnes mœurs, notion désuète n'ayant plus d'application concrète.

L'ordre public n'est pas plus défini qu'il ne l'était auparavant. Son domaine d'application est très vaste. Sont expressément d'ordre public, les parties ne pouvant pas y déroger :

- l'article 1104 relatif à la bonne foi ;
- l'article 1112 relatif au devoir général d'information précontractuelle ;
- l'article 1170 interdisant de priver de sa substance l'obligation essentielle du débiteur ;
- l'article 1171 prohibant les clauses des contrats d'adhésion créant un déséquilibre significatif entre les droits et obligations des parties ;
- l'article 1231-5 autorisant le juge à modérer la clause pénale et reprenant les anciens articles 1152 et 1231 ;
- l'article 1245-14 interdisant les clauses qui visent à écarter ou limiter la responsabilité du fait des produits défectueux et qui reprend en l'état l'ancien article 1386-15 ;
- l'article 1343-5 qui reprend les dispositions actuelles des articles 1244-1 et suivants relatifs au délai de grâce pouvant être accordé par le juge et qui déclare non écrite toute stipulation restreignant la faculté reconnue au juge de reporter ou échelonner, dans la limite de deux années, le paiement des sommes dues.

RÉPONSES AUX QUESTIONS DU QCM (pages 68 - 69)

- | | | |
|---------|------------|-------------|
| 1. A, D | 6. B | 11. A, B, C |
| 2. B | 7. A, C, D | 12. E |
| 3. D | 8. B, D, E | 13. A, C, D |
| 4. E | 9. A | |
| 5. C | 10. A, B | |

Toutes les autres dispositions sont supplétives de la volonté des parties. Du moins, le rapport au Président de la République l'affirme-t-il : le « caractère supplétif [des dispositions du Code civil] s'infère directement de l'article 6 du Code civil et des nouveaux articles 1102 et 1103, sauf mention contraire explicite de la nature impérative du texte concerné. Et, ajoute-t-il, « il n'y a pas lieu de préciser pour chaque article son caractère supplétif, qui constitue le principe, le caractère impératif étant l'exception. La subsistance dans certains articles de la mention «sauf clause contraire» n'autorise par conséquent aucune interprétation *a contrario* et ne remet nullement en cause le principe général du caractère supplétif des textes ».

Même si les tribunaux retiennent cette interprétation, le nouvel article 1171 réputant non écrite toute clause d'un contrat d'adhésion créant un déséquilibre significatif entre les droits et obligations des parties risque fort de restreindre la liberté des parties à un tel contrat d'en déterminer le contenu.

La bonne foi

Auparavant cantonné par l'ancien article 1134 du Code civil à la seule exécution du contrat, le principe de bonne foi est étendu à la négociation et à la formation du contrat (art. 1104 nouveau), la formation étant la phase de rencontre des volontés.

Conformément au droit commun, le manquement à la bonne foi ne pourra être sanctionné que s'il cause un préjudice à la victime.

Le devoir de bonne foi est d'ordre public (art. 1104, al. 2). Ne sera donc pas valable, par exemple, une clause limitant la responsabilité d'une partie en cas de manquement au devoir de bonne foi.

Les catégories de contrat

Les articles 1106 à 1111-1 nouveaux du Code civil donnent des définitions des différents types de contrats.

Certains existent déjà dans l'actuel Code : contrat nommé ou innommé (art. 1105 nouveau) ; contrat synallagmatique ou unilatéral (art. 1106) ; contrat à titre onéreux ou à titre gratuit (art. 1107) ; contrat commutatif ou aléatoire (art. 1108).

D'autres catégories font leur entrée dans le Code. Tout d'abord, l'existence du contrat consensuel (contrat se formant par le seul échange des consentements), solennel (contrat dont la validité est subordonnée à des formes déterminées par la loi) ou réel (contrat dont la formation est subordonnée à la remise d'une chose), est consacrée par l'article 1109 nouveau.

Il en est de même pour le contrat à exécution instantanée (celui dont les obligations peuvent s'exécuter en une prestation unique) ou à exécution successive (celui dont les obligations d'au moins une partie s'exécutent en plusieurs prestations échelonnées dans le temps) : cette distinction traditionnelle est reprise sous le nouvel article 1111-1.

L'ordonnance du 10 février 2016 consacre de nouvelles catégories de contrats :

- sous l'article 1110, le contrat de gré à gré (contrat dont les stipulations sont librement négociées entre les parties) et le contrat d'adhésion (contrat dont les conditions générales, soustraites à la négociation, sont déterminées à l'avance par l'une des parties) ;

- sous l'article 1111, le contrat cadre, défini comme l'accord par lequel les parties conviennent des caractéristiques générales de leurs relations contractuelles futures, et les contrats d'application qui précisent les modalités d'exécution du contrat cadre.

L'ordonnance fait deux applications de la distinction entre contrat de gré à gré et contrat d'adhésion :

- une clause qui crée un déséquilibre significatif entre les droits et obligations des parties au contrat est réputée non écrite si elle figure dans un contrat d'adhésion (C. civ. art. 1171 nouveau) ;
- en cas de doute sur l'interprétation d'un contrat, le contrat de gré à gré s'interprète contre le créancier et en faveur du débiteur, et le contrat d'adhésion contre celui qui l'a proposé (art. 1190 nouveau).

Il est fait référence à la notion de contrat cadre au sein des développements du Code civil relatifs au contenu du contrat : dans les contrats cadre, il peut être convenu que le prix sera fixé unilatéralement par l'une des parties, à charge pour elle d'en motiver le montant en cas de contestation ; en cas d'abus dans la fixation du prix, le juge peut être saisi d'une demande tendant à obtenir des dommages et intérêts et, le cas échéant, la résolution du contrat (art. 1164).

La connaissance de ces nouvelles règles est indispensable pour comprendre la portée et les effets des actes que vous serez amenés à signer.

D'un point de vue pratique, une formation sur les points suivants ne serait pas un luxe :

- les nouveaux principes directeurs du contrat (liberté contractuelle, force obligatoire, bonne foi) ;
- les nouvelles règles applicables lors de la formation du contrat ;
- négociations (respecter le devoir de bonne foi, d'information, de confidentialité) ;
- offre et acceptation (fixer le lieu et la date de conclusion du contrat) ;
- avant-contrats (apprécier la portée des pactes de préférence et promesses unilatérales, apprécier l'opportunité d'une action interrogatoire...) ;
- validité du contrat (anticiper le nouveau vice de violence, apprécier l'opportunité d'une action interrogatoire...) ;
- les nouvelles règles applicables pour déterminer le contenu du contrat ;
- auditer et stipuler des clauses de détermination du prix ;
- auditer et stipuler des clauses limitatives de responsabilité ;
- anticiper la nouvelle sanction du déséquilibre significatif ;
- les nouvelles règles applicables aux effets du contrat ;
- aménager par des clauses la nouvelle possibilité de révision du contrat pour imprévision ;
- auditer et aménager les clauses de durée ;
- anticiper les cessions de contrat ;
- les nouvelles règles applicables en cas d'inexécution ;
- formuler une exception d'inexécution (anticipée ou non) ;
- apprécier l'opportunité d'une résolution unilatérale par notification ;
- demander l'exécution forcée en nature.

Nous continuerons l'étude de l'ordonnance réformant les contrats dans le prochain numéro de RFL. ■■

*Ord. 2016-131 du 10 février 2016 ; JO du 11 février texte n° 26

DROIT DES SOCIÉTÉS

Associé de SEL - Cessation d'activité - Droits

Les statuts d'une société d'exercice libéral (SEL) peuvent-ils valablement priver un associé cessant son activité des droits attachés à ses parts ? Cette sanction peut-elle s'appliquer au droit aux bénéfices ? Voici la réponse de la cour de Cassation*.

Les statuts d'une SEL de pharmaciens constituée à parts égales entre deux associés prévoyaient qu'en cas de cessation d'activité d'un associé ayant pour effet de réduire la participation au capital des associés professionnels en exercice à une fraction inférieure au minimum légal (qui est de plus de 50 %), l'associé perdrait l'exercice des droits attachés à ses parts, celles-ci étant alors rachetées à la diligence de la gérance.

Une Cour d'appel avait déclaré cette clause illicite à la demande de l'un des associés qui avait cessé son activité. Elle avait également rejeté sa demande de nomination d'un mandataire ad hoc chargé de convoquer une assemblée en vue de distribuer les bénéfices qu'il estimait devoir lui revenir depuis sa cessation d'activité.

La Cour de cassation a censuré cette décision par un arrêt qui, **bien que rendu pour une SEL de pharmaciens, vaut pour toute SEL**.

La Cour d'appel avait déclaré la clause illicite car la sanction qu'elle prévoyait - la perte automatique des droits attachés à la qualité d'associé - n'était prévue ni par la loi ni par les statuts types des SEL de pharmaciens.

La Cour de cassation a jugé au contraire que les statuts d'une telle société peuvent déroger aux dispositions légales non impératives et notamment prévoir que l'associé qui cesse son activité perd l'exercice de ses droits tout en restant associé si la cessation d'activité a pour effet de réduire la part de capital des associés en exercice à une fraction inférieure au minimum légal.

Les conditions de validité d'une clause statutaire sont énoncées à l'article 1844-10, al. 2 du Code civil, au visa duquel la Cour de cassation s'est prononcée. Aux termes de ce texte, seules les clauses statutaires contraires à une disposition impérative du Code civil sur les sociétés, dont la violation n'est pas sanctionnée par la nullité de la société, sont réputées non écrites. Le fait qu'une sanction statutaire ne soit pas prévue par la loi, un règlement ou des statuts types ne suffit donc pas à invalider la clause qui l'institue.

Notons toutefois que, par le jeu de la clause litigieuse, l'associé perd le droit de participer aux décisions collectives. Or, ce droit est prévu par une disposition impérative. La Cour de cassation aurait peut-être répondu différemment si la cour



d'appel avait fondé l'illicéité de la clause sur une atteinte à ce droit.

La Cour de cassation a limité la portée de la clause litigieuse en jugeant que la perte de l'exercice des droits attachés à la qualité d'associé n'emporte pas, jusqu'au remboursement des parts, la perte de la rétribution des apports en capital.

La cour d'appel avait retenu à tort que la loi de 1990 tendait uniquement à réserver la majorité du capital et des droits de vote aux pharmaciens exerçant effectivement au sein de la société et que l'associé qui cesse son activité n'avait pas vocation à percevoir les bénéfices réalisés grâce à l'industrie de l'associé en exercice.

En effet, la part de chaque associé dans les bénéfices se détermine à proportion de sa part dans le capital social, sans autre condition, notamment liée à l'exercice de sa profession au sein de la société. L'associé qui se retire n'est donc pas privé des droits patrimoniaux attachés à ses parts du seul fait de son retrait.

La portée de la clause litigieuse est ainsi limitée aux seuls droits d'associés non patrimoniaux qui ne sont pas d'ordre public. Le droit de participer aux décisions collectives et le droit de vote, qui en est le corollaire, étant d'ordre public, la clause ne paralyse donc que le droit de communication et le droit d'intervenir dans la vie sociale (questions écrites, etc.), qui varient en fonction des formes de SEL adoptées. ■■

*Cass. com. 8 décembre 2015 n° 14-19.261, B. c/ Sté Pharmacie du Béal

TEXTES JURIDIQUES

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 25/8/2016)

Arrêté du 16 août 2016 portant homologation des règles de bonnes pratiques relatives à l'entretien avec les proches en matière de prélèvement d'organes et de tissus

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033063529&dateTexte=&categorieLien=id> [Annoncer le décès et suggérer le don d'organes aux proches d'un patient décédé]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 26/8/2016)

Décret n° 2016-1151 du 24 août 2016 relatif au portail de signalement des événements sanitaires indésirables

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033067017&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 19 août 2016 relatif à la qualification professionnelle des personnes responsables de la fabrication, du conditionnement, de l'importation, des contrôles de qualité, de l'évaluation de la sécurité pour la santé humaine, de la détention et de la surveillance des stocks de matières premières et de produits finis des produits de tatouage

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033067027&dateTexte=&categorieLien=id> [Tatouages, un risque biologique lié aux produits]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 27/8/2016)

Arrêté du 19 août 2016 modifiant l'arrêté du 11 décembre 2014 modifié portant nomination des membres appelés à siéger dans les comités d'experts chargés d'autoriser les prélèvements d'organes et de cellules hématopoïétiques issues de la moelle osseuse sur une personne vivante

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033070390&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 1/9/2016)

Décret n° 2016-1185 du 30 août 2016 relatif à la participation des assurés pour les frais liés au dépistage spécifique du cancer du sein en cas de risque élevé

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033080098&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 2/9/2016)

Arrêté du 30 août 2016 modifiant la liste des spécialités pharmaceutiques prises en charge en sus des prestations d'hospitalisation mentionnée à l'article L. 162-22-7 du code de la sécurité sociale

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033084622&dateTexte=&categorieLien=id> [Produits de lutte antifongique en milieu hospitalier]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 9/9/2016)

Arrêté du 7 septembre 2016 portant nomination à l'Agence nationale du développement professionnel continu

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033104032&dateTexte=&categorieLien=id> [Vos interlocuteurs pour le DPC]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 13/9/2016)

Arrêté du 30 août 2016 portant répartition régionale des contrats de praticiens isolés à activité saisonnière

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033116349&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 30 août 2016 portant répartition régionale des contrats de praticiens territoriaux de médecine générale

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033116353&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 14/9/2016)

Arrêté du 9 septembre 2016 modifiant la liste des spécialités pharmaceutiques prises en charge en sus des prestations d'hospitalisation mentionnée à l'article L. 162-22-7 du code de la sécurité sociale

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033117744&dateTexte=&categorieLien=id> [Traitement de l'hémophilie]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 16/9/2016)

Arrêté du 8 septembre 2016 portant classement sur les listes des substances vénéneuses

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033120953&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 21/9/2016)

Arrêté du 14 septembre 2016 relatif aux critères d'enregistrement des organismes ou structures qui souhaitent présenter des actions de développement professionnel continu auprès de l'Agence nationale du développement professionnel continu et à la composition du dossier de présentation des actions

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033133271&dateTexte=&categorieLien=id> [Les critères de l'ANDPC]

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 27/9/2016)

Décret n° 2016-1249 du 26 septembre 2016 relatif à l'action de groupe en matière de santé

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033156394&dateTexte=&categorieLien=id> [Quand les patients regroupés demandent réparation]

Arrêté du 23 septembre 2016 portant inscription des os longs et fragments osseux cryoconservés de la société Ostéobanque d'Auvergne au titre III de la liste des produits et prestations remboursables prévue à l'article L. 165-1 du code de la sécurité sociale [Une banque d'os]

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000033156504&dateTexte=&categorieLien=id>

Pour ou contre l'heure d'été

Il y a un an, le sénateur Roland Courteau attirait l'attention de la ministre de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie sur l'instauration depuis... 1976 de l'heure d'été, lui demandant s'il est dans ses intentions de vérifier si ce changement d'heure se justifie toujours et s'il sera décidé de son opportunité... en 2016. Transmise au ministère de l'Environnement, de l'Énergie et de la Mer, chargé des relations internationales sur le climat, la question a eu sa réponse ce 1^{er} septembre.

Le système de l'heure d'été consiste à avancer l'heure légale de 60 minutes durant la période estivale par rapport au reste de l'année. Appliquée au Royaume-Uni et en Irlande depuis la Première Guerre mondiale et en Italie depuis 1966, l'heure d'été a été introduite dans les pays de l'Union européenne au début des années 1980 en réponse aux *chocs pétroliers* en vue de la maîtrise de la consommation d'énergie. En France, il a été établi par un décret du 19 septembre 1975. Actuellement, c'est la directive 2000/84/CE du Parlement européen et du Conseil du 19 janvier 2001 qui fixe les périodes d'heure d'été. En application de l'article 5 de cette directive, un rapport sur les incidences de l'heure d'été sur les différents secteurs concernés a été publié en 2007 par la Commission européenne qui estime que le régime d'heure d'été tel qu'instauré par la directive reste approprié.

Contrairement aux autres pays de l'Union européenne favorables à l'heure d'été, l'opinion publique française est plus nuancée. Selon la dernière enquête du Centre de recherche pour l'étude et l'observation des conditions de vie (CREDOC, 2012), 40 % des personnes interrogées souhaitent le maintien de l'heure d'été, 21 % sont indifférentes et 38 % y sont défavorables. Une nouvelle évaluation de l'impact de l'heure d'été en termes d'énergie, de gaz à effet de serre et de qualité de l'air, complétée par une revue des incidences économiques et sociétales, a été réalisée par l'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (ADEME) en 2015. Elle confirme l'économie d'énergie réalisée sur l'éclairage et sur la climatisation. Cette économie d'énergie est de l'ordre de quelques centaines de GWh répétée chaque année (205 GWh pour 2012). Le gouvernement reste « particulièrement attentif aux avis qui lui sont communiqués ». ■■

J.-M. M.



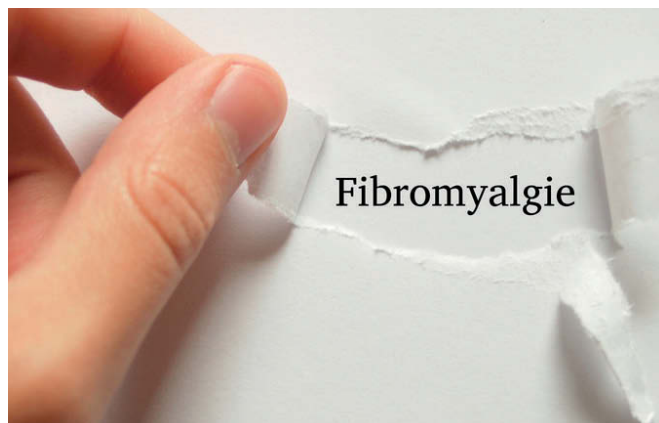
Pour une seringue à usage unique universelle

Les seringues à usage unique devraient être généralisées, suggère Patricia Schillinger, sénatrice, au ministère des Affaires sociales et de la Santé. Chaque année, des millions de personnes sont contaminées dans le monde par des virus avec du matériel souillé. Selon l'OMS, près de 1,7 million de personnes ont été ainsi contaminées par le VHB, jusqu'à 315 000 par le VHC et 33 800 par le VIH. Chaque année, 16 milliards d'injections sont effectuées, environ 5 % sont des vaccins, 5 % servent à d'autres actes comme des transfusions et les 90 % restants des injections intramusculaires ou sous-cutanées pour administrer des médicaments. Dans bien des cas, selon l'OMS, ces injections ne sont pas nécessaires et pourraient être remplacées par des comprimés. Il faut non seulement utiliser de préférence les seringues à usage unique mais aussi réduire le nombre de *piqûres* superflues, pour réduire le risque d'infection. Et même si la majorité des cas survient dans les pays en voie de développement, nul n'est à l'abri. Qu'en pense le ministère.



Réponse : en France, comme dans les pays à niveau de vie comparable, les standards de qualité des soins reposent, pour les injections, sur l'emploi de matériel à usage unique, seringues et aiguilles. De fait, l'estimation du nombre de contaminations virales liées à des pratiques d'injections non sécurisées rapportée par l'OMS exclut les pays à haut niveau de revenus tels que ceux de l'Europe de l'Ouest, l'Amérique du Nord, le Japon, l'Australie, la Nouvelle-Zélande et certains pays du Moyen-Orient où ce risque est considéré comme *négligeable*, compte tenu des pratiques de soins de ces pays. Toutefois, le problème des injections non sécurisées dans nombre de pays est pris en compte dans les recommandations sanitaires aux voyageurs, qui sont disponibles par exemple sur le site du ministère de la santé. De ce fait, rappelle le ministère, il est recommandé au voyageur de refuser tout geste s'il n'est pas sûr qu'il sera effectué avec du matériel neuf à usage unique, aiguilles et seringues notamment, et de se munir avant le départ, si besoin, de seringues et aiguilles à usage unique. ■■

J.-M. M.



© thingamejigs/fotolia.com

Reconnaissance de la fibromyalgie : expertise en cours

La fibromyalgie est régulièrement évoquée par des parlementaires à l'adresse du ministère de la Santé. Le sénateur Michel Fontaine évoque la situation des personnes atteintes de fibromyalgie, maladie qui provoque des douleurs musculaires et articulaires diffuses, une grande fatigue, des troubles cognitifs et des troubles du sommeil et de l'humeur. Ce syndrome [dit aussi SPID : syndrome polyalgique idiopathique diffus-NDLR] n'a pas de cause connue mais génère un handicap important pour les malades. Si l'OMS reconnaît la fibromyalgie comme maladie à part entière, la Sécurité Sociale ne la prend pas en compte comme affection de longue durée (ALD).

Question [récurrente] : quelles mesures entend-on mettre en œuvre pour améliorer l'évaluation, la reconnaissance et l'accès aux soins des malades.

Réponse : le syndrome fibromyalgique - ensemble de symptômes, principalement la douleur chronique majorée notamment à l'effort - s'accompagne de fatigue [asthénie], de perturbations du sommeil et de troubles anxiodépressifs. Le diagnostic est posé devant la persistance des symptômes et l'absence d'autre maladie identifiée, d'anomalie biologique ou radiologique. La HAS a réalisé *un état des lieux (sic)* des données disponibles chez l'adulte en... juillet 2010. Mais il n'existe à ce jour ni de traitement spécifique, en particulier médicamenteux, ni de prise en charge bien établie du syndrome. Les traitements proposés visent à maîtriser les symptômes et doivent être adaptés à chaque patient. Les options thérapeutiques nécessitent souvent une prise en charge pluridisciplinaire.

Le ministère, conscient des limites des connaissances sur ce syndrome, s'est saisi de ce sujet en sollicitant l'INSERM pour une expertise collective en 2016, qui doit permettre de faire le point sur les connaissances scientifiques récentes, en incluant les données sur la prévalence, le diagnostic, la physiopathologie et la prise en charge. Elle permettra d'avoir des connaissances cliniques et d'identifier les stratégies, validées ou recommandées, permettant de proposer un parcours de soins pour les patients. Il convient en effet de disposer d'informations actualisées sur ce problème de santé. L'expertise collective donnera des pistes pour une prise en charge adaptée et une meilleure prise en compte du retentissement du syndrome sur la vie sociale et professionnelle des patients. ■■

J.-M. M.

Déserts médicaux : un manque aussi de cardiologues libéraux en Vendée

La pénurie de médecins ne touche pas seulement la médecine générale. Didier Mandelli, sénateur de la Vendée, attire l'attention du ministère des Affaires sociales et de la Santé sur les déserts médicaux de son département : si le nombre de généralistes y est inquiétant, celui des cardiologues l'est davantage. Aujourd'hui la Vendée ne compte plus que 13 cardiologues exerçant principalement en libéral, d'où un délai moyen de rendez-vous de plus de 200 jours ! Cette situation est due à la désaffection des jeunes pour les territoires ruraux, à l'exercice de la médecine libérale qui recule au profit d'une salarisation croissante des médecins. Des mesures ont été prises notamment en augmentant le *numerus clausus* dans les régions manquant le plus de médecins, avec mise en place du **Contrat d'engagement de service public (CESP)**, élargi aux spécialistes en 2015.

Ces mesures semblent insuffisantes à inciter les médecins à exercer en libéral. Quelles mesures sont prévues pour lutter contre la désertification médicale, qui doivent permettre d'ajuster les installations aux régions et encourager généralistes et spécialistes à exercer en libéral ?

Réponse : améliorer l'accès aux soins, réduire les inégalités entre territoires sont des objectifs prioritaires. Le Pacte territoire santé lancé en 2012 prévoit différentes actions, telle la formation aux conditions d'exercice pour attirer les jeunes médecins dans des territoires manquant de professionnels. Le CESP permet aux jeunes en formation de percevoir une bourse en contrepartie d'une installation là où manquent des professionnels. Plus de 1 750 jeunes l'ont déjà signé. Un nouvel objectif de 800 contrats supplémentaire d'ici à 2018 a été fixé. Des stages au cours de la formation sont essentiels pour faire connaître et apprécier l'exercice en cabinet. La pratique des stages de médecine générale sera généralisée pour tous les étudiants de deuxième cycle.

Le ministère a voulu que l'effort porte aussi sur les stages en ville dans d'autres spécialités. Une régulation de la démographie médicale s'opère également par le *numerus clausus* ou par les épreuves classantes nationales, qui permettent de répartir les étudiants en médecine entre différentes spécialités, avec un effort particulier pour la cardiologie : le nombre de postes offerts dans cette spécialité a augmenté de 65 % depuis 2010, vs une hausse de 28 % pour l'ensemble des spécialités. Cette augmentation représente 230 postes au titre de l'année universitaire 2015-2016. La région des Pays de la Loire bénéficie de cette évolution positive : le nombre de postes pourvus en cardiologie était de 11 en 2015, soit une augmentation de 57 % par rapport à 2010. Dans cette région, l'ARS accompagne notamment une expérimentation de télé-expertise avec des cardiologues volontaires. Engagée dans le département de la Sarthe, elle doit être étendue à toute la région. ■■

J.-M. M.



© pict rider/fotolia.com